

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

E.A.P. DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**“ESCALA DE MADUREZ GONADAL DEL
LENGUADO *Paralichthys adspersus* (Steindachner,
1867)”**

TESIS

Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en

Hidrobiología y Pesquería

AUTOR

Noemí Jackelith Cota Mamani

Lima-Perú

2012



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCALA DE MADUREZ GONADAL DEL LENGUADO

Paralichthys adspersus (Steindachner, 1867)

Tesis para optar al Título Profesional de Biólogo con mención en
Hidrobiología y Pesquería

Presentado por:

Bach. NOEMÍ JACKELITH COTA MAMANI

Asesores:

Asesor: Mag. MAURO MARIANO ASTOCONDOR

Co-Asesor: Blgo. MIGUEL ANGEL PEREA DE LA MATTA

Lima - Perú

2012

A mis padres Willy y Gladys, no hay palabras que puedan describir mi profundo agradecimiento hacia ustedes por su amor, comprensión, apoyo y por durante todos estos años creer en mí. A la Virgen de la Asunción y sobre todo a Dios, por darme el honor de ser su hija.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Mag. Mauro Mariano Astocondor por su gran apoyo desde que era estudiante de pre-grado y ahora como egresada.

A mi co-asesor Blgo. Miguel Angel Perea de la Matta por el apoyo prestado en la elaboración de la presente tesis y por incentivar, al igual que a mí, a muchos otros jóvenes a realizar sus trabajos para su titulación.

A la Ing. Lili Carrera Santos por la oportunidad brindada para realizar mi tesis como parte del Proyecto FINCyT “Producción de semilla del lenguado: I Mejoramiento de la calidad y cantidad de desoves” y por su amistad, consejos y apoyo.

A los integrantes del mencionado proyecto, en especial al Mag. Carlos Espinoza Pardo por la colaboración brindada en la revisión de este trabajo.

A la Blga. Betsy Buitrón por permitir realizar mi tesis en el laboratorio de Biología Reproductiva del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) y a los demás integrantes de este laboratorio Blgo(a). Julio Mori, Javier Sánchez y Cecilia Roque.

A los integrantes del C.I.A. Von Humboldt en especial al Dr. Enrique Mateo del laboratorio de Patobiología Acuática por permitirme el uso de sus equipos y a los integrantes de dicho laboratorio por brindarme un tiempo de utilización. Además a los integrantes del laboratorio de Cultivo de Peces y Biotecnología Acuática por toda su colaboración y amistad.

Al Instituto del Mar del Perú (IMARPE) por ser el primer lugar donde me desarrolle profesionalmente y por brindarme la oportunidad de continuar haciéndolo.

A mis amigos tesistas, Ana Cure y Jacinto Paredes, con los cuales pase muy buenos momentos aprendiendo y desarrollando nuestros trabajos.

A mi familia, en especial a Guadalupe Mamani, Beatriz Fernández y JAKER, por todo su apoyo y ser mi fuente de alegría.

Y gracias a todas las personas que me quieren y que de alguna manera me apoyaron en este camino, sobre todo a mis amigos de la universidad y a ti mi corazón Edgar.

ÍNDICE GENERAL

➤	INDICE DE TABLAS	viii
➤	INDICE DE FIGURAS	ix
➤	RESUMEN	xiv
➤	ABSTRACT	xv
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEÓRICO	4
	1. POSICIÓN TAXONÓMICA	4
	2. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT	4
	3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	4
	4. ALIMENTACIÓN	5
	5. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS	5
	6. SISTEMA REPRODUCTOR DE HEMBRAS DE TELEÓSTEOS	6
	7. SISTEMA REPRODUCTOR DE MACHOS DE TELEÓSTEOS	8
	8. MÉTODOS PARA DETERMINAR EL GRADO DE DESARROLLO GONADAL	9
III.	OBJETIVOS	11
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	12
	1. MATERIAL BIOLÓGICO	12
	2. MÉTODOS	13
	2.1 LUGAR DE EJECUCIÓN	13
	2.2 EVALUACIÓN BIOMÉTRICA Y BIOLÓGICA DE LOS PECES	13
	2.3 PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE LAS GÓNADAS	14
	2.4 CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO DE LOS GAMETOS	18
	2.5 HOMOGENEIDAD DEL OVARIO	19
	2.6 CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS POBLACIONES OVOCITARIAS	19
	2.7 ESCALA MICROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL	19
	2.8 ESCALA MACROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL	20
	2.9 PROPORCIÓN POR GRUPOS DE LONGITUDES	20

TOTALES	
2.10 TALLA DE PRIMERA MADUREZ GONADAL	20
2.11 EVALUACIÓN DE OTROS PARÁMETROS	
INDICADORES DEL DESARROLLO GONADAL	20
2.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
V. RESULTADOS	23
1. ÍNDICES MORFOMÉTRICOS	23
2. MORFOLOGIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO	23
2.1 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA	23
2.2 MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA	25
3. MORFOLOGIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO	26
3.1 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA	26
3.2 MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA	27
4. CARACTERIZACION DEL DESARROLLO DE LOS GAMETOS	31
4.1 DESARROLLO OVOCITARIO	31
4.2 FOLÍCULO POST-OVULATORIO	37
4.3 ATRESIA	38
4.4 DESARROLLO ESPERMATOGÉNICO	39
5. HOMOGENEIDAD DEL OVARIO	43
6. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS POBLACIONES OVOCITARIAS	44
7. ESCALAS DE MADUREZ GONADAL	45
7.1 ESCALA MICROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL	45
7.1.1 Hembras	45
7.1.2 Machos	48
7.2 ESCALA MACROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL	53
7.2.1 Hembras	57
7.2.2 Machos	63
8. CICLO DE MADURACIÓN GONADAL	
9. PROPORCIÓN SEXUAL POR GRUPOS DE LONGITUDES TOTALES	64
10. TALLA DE PRIMERA MADUREZ GONADAL	65

11. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE MADUREZ GONADAL DURANTE EL ESTUDIO	
12. EVALUACIÓN DE OTROS PARÁMETROS INDICADORES DEL DESARROLLO GONADAL	68
12.1 ÍNDICE GONADOSOMÁTICO	68
12.2 ÍNDICE HEPATOSOMÁTICO	70
12.3 FACTOR DE CONDICIÓN	70
13. RELACIÓN LONGITUD TOTAL – PESO TOTAL	71
14. PRESENCIA DEL PARÁSITO NEMATODO <i>Philometra</i> sp. EN LOS OVARIOS Y TESTÍCULOS	72
15. ESTADIO DE MADUREZ GONADAL DE PECES MANTENIDOS EN CAUTIVERIO	76
VI. DISCUSIÓN	79
VII. CONCLUSIONES	93
VIII. RECOMENDACIONES	94
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

INDICE DE TABLAS

- Tabla 1: Índices morfométricos de *Paralichthys adspersus* “lenguado” entre sexos. Parte superior de la fila: promedio \pm DS, Parte inferior de la fila: rango (R) y número de muestra (NM).
- Tabla 2: Tipos y características de ovocitos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Tabla 3: Tipos y características de células espermatogénicas de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. H-E: Coloración hematoxilina-eosina.
- Tabla 4: Estadios y sus características de la escala microscópica de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.
- Tabla 5: Estadios y sus características de la escala microscópica de madurez gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Tabla 6: Estadios y sus características de la escala macroscópica de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.
- Tabla 7: Estadios y sus características de la escala macroscópica de madurez gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.
- Tabla 8: Estadios de madurez gonadal de hembras del lenguado *Paralichthys adspersus*. A: Atresia, FPO: folículo post-ovulatorio, O: ovogonia, OH: ovocito hidratado, OI: ovocito inmaduro, OM: ovocito maduro, OPV: ovocito pre-vitelogénico, OV: ovocito vitelogénico.
- Tabla 9: Estadios de madurez gonadal de machos del lenguado *Paralichthys adspersus*. SP: espermatogonia, SPC: espermatocono, SPD: espermátida, SPZ: espermatozoide, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.
- Tabla 10: Parámetros indicadores del desarrollo gonadal (IGS, IHS y K) de *Paralichthys adspersus* “lenguado” entre sexos. Parte superior de la fila: promedio \pm DS, Parte inferior de la fila: rango (R) y número de muestra (NM).
- Tabla 11: Máximo valor, mínimo valor y promedio del factor de condición (K) durante el periodo de estudio de hembras y machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Desembarques de *Paralichthys adspersus* “lenguado” 1950 - 2010 (PRODUCE, 2011).
- Figura 2: Zona de captura de *Paralichthys adspersus* “lenguado” para el presente estudio.
- Figura 3: Captura de ejemplares de *Paralichthys adspersus* “lenguado” utilizando atarraya.
- Figura 4: Flujograma de la técnica de infiltración en parafina.
- Figura 5: Flujograma de las estaciones del procesador automático de tejidos.
- Figura 6: Poro genital y ano de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 7: a) Localización del ovario. Escala 1 cm y b) Porción central del esqueleto de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 8: Partes y localización de los cortes del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: orientación anterior, P: orientación posterior, O: orientación del oviducto, AD: parte anterior derecha, MD: parte media derecha, PD: parte posterior derecha, AI: parte anterior izquierda, MI: parte media izquierda, PI: parte posterior izquierda.
- Figura 9: Proyección de lamelas del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Aumento: 40x. E: estroma, OI: ovocitos inmaduros, VS: vaso sanguíneo.
- Figura 10: a) Poro urogenital y b) Localización del testículo y porción central del esqueleto de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 11: a) Partes y localización de los cortes de los testículos. b) Zona de Crecimiento (ZC) y de Colección (ZCL) macroscópicamente y c) ZC y ZCL microscópicamente de los testículos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento 40x. A: orientación anterior, P: orientación posterior, DE: orientación del ducto espermático, AD: parte anterior derecha, MD: parte media derecha, PD: parte posterior derecha, AI: parte anterior izquierda, MI: parte media izquierda, PI: parte posterior izquierda.
- Figura 12: a) Cistos de células espermatozógenas y b) Estroma del testículo del lenguado *Paralichthys adspersus*. Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: estroma, VS: vaso sanguíneo.
- Figura 13: Esquema del sistema reproductor masculino de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 14: Ovogonias (O) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 10 µm. Aumento: 600x.

- Figura 15: Ovocito inmaduro (OI) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 400x. N: núcleo, n: nucleolo.
- Figura 16: Ovocito pre-vitelogénico (OPV) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 400x. GC: gránulo cortical, N: núcleo, n: nucleolo.
- Figura 17: Ovocito vitelogénico (OV) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 100x. N: núcleo, n: nucleolo, OM: ovocito maduro.
- Figura 18: a) Teca, granulosa y zona radiata de ovocito maduro. Escala: 100 µm. Aumento: 400x y b) Ovocito maduro (OM) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 100x. GC: gránulo cortical, GV: gránulo de vitelo, N: núcleo.
- Figura 19: Ovocito hidratado (OH) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 100x.
- Figura 20: Folículo post-ovulatorio (FPO) a) FASE 0, b) FPO FASE 1 y c) FPO FASE 2 de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 400x. L: lumen.
- Figura 21: a) Ovocitos en atresia (A) y b) Ovocitos en A en fase avanzada de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 100x.
- Figura 22: Espermatogonia (SP) y espermatocito (SPC) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 10 µm. Aumento: 600x.
- Figura 23: Espermátidas (SPD) y espermatozoides (SPZ) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: Estroma, SPC: espermatocito.
- Figura 24: Espermatozoide (SPZ) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: estroma.
- Figura 25: Presencia en porcentaje de los tipos de ovocitos y folículos post-ovulatorios en cada ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. F0: folículo post-ovulatorio FASE 0, F0+: folículo post-ovulatorio FASE 1 y/o FASE 2, OH: ovocito hidratado, OM: ovocito maduro.
- Figura 26: Presencia en porcentaje de los tipos de ovocitos y folículos post-ovulatorios en cada parte del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. F0: folículo post-ovulatorio FASE 0, F0+: folículo post-ovulatorio FASE 1 y/o FASE 2, OH: ovocito hidratado, OM: ovocito maduro.
- Figura 27: Caracterización morfométrica de las poblaciones ovocitarias de los estadios de madurez gonadal de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

- Figura 28: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c) ,d) Estadio maduro (Estadio III), e) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de ovocitos hidratados, f) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de folículos post-ovulatorios, g) Estadio recuperación (Estadio V) y h) Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. A: atresia, E: estroma, FPO: folículo post-ovulatorio, L: lamelas, OH: ovocito hidratado, OI: ovocito inmaduro, OM: ovocito maduro, OPV: ovocito pre-vitelogénico, OV: ovocito vitelogénico, P: pared, VS: vaso sanguíneo.
- Figura 29: a) Estadio inmaduro (Estadio 0). Escala: 100 μ m. Aumento: 40x, b) Estadio en maduración (Estadio II). Escala: 100 μ m. Aumento: 40x, c) Estadio maduro (Estadio III). Escala: 100 μ m. Aumento: 40x, d) Zona de crecimiento del estadio expulsante (estadio IV). Escala: 100 μ m. Aumento: 100x, e) Zona de Colección del estadio expulsante. Escala: 100 μ m. Aumento: 100x, f) Zona de Crecimiento del estadio post-expulsante (estadio V). Escala: 100 μ m. Aumento: 40x, g) Zona de Colección del estadio post-expulsante. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x y h) Estadio inactivo (estadio I) de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. E: estroma, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.
- Figura 30: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c) Estadio maduro (Estadio III), d) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de ovocitos hidratados, e) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de folículos post-ovulatorios, f) Estadio recuperación (Estadio V) y g) Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 1 cm. A: orientación anterior, O: orientación del oviducto, P: orientación posterior.
- Figura 31: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c) Estadio maduro (Estadio III), d) Estadio expulsante (Estadio IV), e) Estadio post-expulsante (Estadio V) y f) Estadio inactivo (estadio I) de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 1 cm. A: orientación anterior, DE: orientación del ducto espermático, P: orientación posterior.
- Figura 32: Ciclo de maduración gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 33: Ciclo de maduración gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

- Figura 34: Proporción sexual por grupos de longitudes totales de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Región sombreada en gris: crecimiento favorable de la proporción de hembras.
- Figura 35: Talla de primera madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 36: Número de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado” por estadio de madurez gonadal según las estaciones. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.
- Figura 37: Número de machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado” por estadio de madurez gonadal según las estaciones. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación.
- Figura 38: Índice gonadosomático (IGS) promedio para cada estadio de madurez gonadal de hembras (0) y machos (1) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Las barras indican el error estándar y las letras las diferencias estadísticas. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante o expulsante, V: recuperación o post-expulsante, I: inactivo.
- Figura 39: Índice hepatosomático (IHS) promedio para cada estadio de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Las barras indican el error estándar y las letras las diferencias estadísticas. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.
- Figura 40: Relación longitud total – peso total de hembras y machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 41: Prevalencia de *Philometra* sp. en hembras, machos y total de peces analizados de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.
- Figura 42: Observación macroscópica de *Philometra* sp. en a) Ovarios y b) Testículos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: orientación anterior, DE: orientación del ducto espermático, O: orientación del oviducto, P: orientación posterior.
- Figura 43: Observación microscópica de *Philometra* sp. en a) Ovarios maduros (Estadio III) y b) Testículos en maduración (Estadio II) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 40x. Ph: *Philometra* sp.
- Figura 44: Prevalencia de *Philometra* sp. para cada estadio de madurez gonadal en hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.

- Figura 45: Prevalencia de *Philometra* sp. para cada estadio de madurez gonadal en machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: expulsante, V: post-expulsante.
- Figura 46: Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenida en cautiverio. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. E: estroma, P: pared, Ph: *Philometra* sp.
- Figura 47: Estadio expulsante (Estadio IV) de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenido en cautiverio. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. E: estroma, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.
- Figura 48: Número de peces por estadio de madurez gonadal según sexos de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenidos en cautiverio de octubre del 2009 hasta la fecha de su sacrificio (entre noviembre del 2009 y marzo del 2011).
- Figura 49: Prevalencia de *Philometra* sp. en hembras, machos y total de peces analizados de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenidos en cautiverio de octubre del 2009 hasta la fecha de su sacrificio (entre noviembre del 2009 y marzo del 2011).

RESUMEN

Paralichthys adspersus “lenguado”, especie endémica de las costas de Perú y Chile, es muy valorada comercialmente y los estudios demuestran la factibilidad de su cultivo. En tal sentido, la clasificación del desarrollo gonadal en escalas de madurez, viene a ser una fuente de información para conocer el ciclo reproductivo de esta especie y necesario para el manejo de los recursos en el medio natural así como en cautiverio. Los 162 individuos utilizados en la presente tesis, fueron adquiridos de capturas realizadas en la costa central del Perú. Los peces se evaluaron biométrica y biológicamente. Se analizaron y procesaron histológicamente 96 ovarios y 66 testículos. Se realizó la caracterización del desarrollo de los gametos y de las gónadas microscópica y macroscópicamente; además se evaluó la homogeneidad del ovario, la caracterización morfométrica de las poblaciones ovocitarias en cada estadio de madurez gonadal, la proporción sexual por grupos de longitudes totales, la talla de primera madurez gonadal y otros parámetros indicadores del desarrollo gonadal. Del grupo evaluado, las hembras representaron el 59,3% mientras que los machos el 40,7%. La caracterización de los ovocitos permitió clasificarlos en: Inmaduro, Pre-vitelogénicos, Vitelogénicos, Maduro e Hidratado y de las células espermatogénicas en: Espermatogonia, Espermatocito, Espermátida y Espermatozoide. Además, se observó Folículos Post-ovulatorios (FPO) y Atresia ovocitaria. Se tuvo en cuenta en este estudio, en el caso de las hembras, la no existencia de diferencias significativas en el desarrollo ovocitario en cualquier parte de la gónada; y en el caso de los machos, la diferenciación de una Zona de Crecimiento (ZC) y de Colección (ZCL). Se clasificó microscópicamente y macroscópicamente a los ovarios en los siguientes estadios de madurez gonadal: Inmaduro, En maduración, Maduro, Desovante, Recuperación e Inactivo; y a los testículos en: Inmaduro, En maduración, Maduro, Expulsante, Post-expulsante e Inactivo. En la proporción sexual de los peces se observó un crecimiento favorable de las hembras hacia mayores longitudes. La mayor parte de las capturas estuvo representada por peces maduros, desovantes o expulsantes en los meses que comprenden las estaciones de primavera y verano. El IGS e IHS son buenos indicadores del desarrollo gonadal en el caso de las hembras; contrariamente, el K no es un buen indicador en ninguno de los dos sexos. La prevalencia del parásito nematodo *Philometra* sp. fue de 19,14% y mayor en hembras, no se observó anormalidades producidas por la infección ni efectos en la maduración gonadal. La comparación de las características macro y microscópicas de las gónadas de peces sometidos al cautiverio no mostraron ninguna diferencia con respecto a las gónadas de los peces silvestres.

PALABRAS CLAVES: *Paralichthys adspersus*, lenguado, ovocitos, células espermatogénicas, madurez gonadal.

ABSTRACT

Paralichthys adspersus "fine flounder" is endemic specie from the coasts of Peru and Chile. This specie is valuable and highly commercially and studies show the feasibility of its culture. The gonadal development classification in maturity scales, is a source of information to understand the specie reproductive cycle, necessary for resource management in wildness and in captivity. In this study 162 fishes caught from the central coast of Peru were used. The fishes were biometric and biologically evaluated. Ninety six (96) ovaries and sixty six (66) testes, were analyzed and processed histologically.

The development of gametes and gonads microscopic and macroscopic were characterized; also ovary homogeneity, morphometric characterization of oocyte populations of each stage of gonadal maturity, sex ratio for total length groups, the first maturity size and other parameters of gonadal development indicators, were evaluated. Females accounted for 59.3% while 40.7% males. The oocytes were classified in: Immature, Pre-vitellogenic, Vitellogenic, Mature and Hydrated; in males, spermatogenic were classified as: Spermatogonium, Spermatocyte, Spermatid and Spermatozoa. In addition, were recognized Post-ovulatory Follicles (POF) and Atresia in females. In this study, females showed no significant differences in oocyte development in any part of the gonad; in the case of males, there were differentiation in Growth Area (GA) and Collection Area (CLA). The ovaries were classified microscopically and macroscopically in the following gonadal maturity stages: Immature, Maturing, Mature, Spawning, Recovery and Inactive; testes were classified in: Immature, Maturing, Mature, Spent, Post-spent and Inactive. The sex ratio showed a positive growth of females to greater lengths. Most of the catch was represented by mature, spawning or spent fish in spring and summer. The IGS and IHS are good indicators of gonadal development in females; however, K is not a good indicator in both sexes. Prevalence of nematode parasite *Philometra* sp. was 19.14% and higher in females, no abnormalities caused by infection or effects on gonadal maturation, were observed. Comparison between macroscopic and microscopic characteristics of the gonads of captivity fish, showed no difference from the gonads from wild fish.

KEYWORDS: *Paralichthys adspersus*, fine flounder, oocytes, spermatogenic cells, gonadal maturity.

I. INTRODUCCIÓN

Paralichthys adspersus es una especie muy valorada comercialmente, debido a la excelente calidad de su carne, alto valor nutritivo y a los buenos precios que alcanza en el mercado nacional e internacional. A pesar de ello, la disminución de sus capturas ha afectado su comercialización. Frente a esta realidad, los estudios demuestran la factibilidad de su cultivo (Chinchayán *et al.*, 1997), convirtiéndola en una especie acuícola potencial e incrementando las investigaciones sobre su biología y cultivo para un mejor manejo en el medio natural y en cautiverio.

El interés acuícola por este lenguado ha impulsado el desarrollo de investigaciones sobre su acondicionamiento, desarrollo, crecimiento, alimentación y reproducción en cautiverio (Silva y Flores, 1989; Miranda y Rojas, 1993; Silva y Flores, 1994; Chinchayán *et al.*, 1997; Cisneros *et al.*, 1999; Silva, 1999; Silva, 2001; Silva *et al.*, 2001; Carrera, 2006; Carrera y Santos, 2007; Piaget *et al.*, 2007; Silva y Oliva, 2010; Carrera *et al.*, en prensa). Sin embargo, estudios sobre aspectos reproductivos de esta especie son escasos (Samamé y Castañeda, 1999; Ángeles y Mendo, 2005).

El conocimiento de la serie de cambios que ocurren durante el desarrollo de las gónadas, son de gran importancia debido a que nos dan un amplio panorama de la biología general de la población de una especie (Tresierra *et al.*, 2002). Además, la clasificación del desarrollo gonadal en escalas de madurez, son fuente de información para conocer el ciclo reproductivo de una especie. A partir de estos conocimientos se establece el lugar y época de reproducción, talla de primera madurez gonadal y fecundidad, elementos necesarios para el manejo de los recursos en el medio natural así como en cautiverio.

P. adspersus es una especie endémica de las costas de Perú y Chile, se distribuye desde Paita en el Perú hasta la localidad de Lota e Islas Juan Fernández en Chile

(Acuña y Cid, 1995; Chirichigno, 1998). Es un pez bentónico que presenta aplanamiento del lado derecho de su cuerpo con la previa migración del ojo derecho hacia el lado izquierdo en las primeras etapas de vida. Esta metamorfosis, permite diferenciar un lado ocular (pigmentado) y un lado ciego (no pigmentado) (Kong y Castro, 2002).

La pesquería de *P. adspersus* es del tipo artesanal. Las estadísticas de los desembarques generalmente involucran otras especies; sin embargo, los datos nos dan un panorama de la abundancia de este recurso. En la figura 1 se observa los principales desembarques por años, existiendo incrementos desde 1950 hasta 1995 y posteriormente descensos significativos (PRODUCE, 2011). Se hace referencia que para las capturas se utilizan artes de pesca como la “cortina” y el “trasmallo” y en menor escala con “pinta”, “chinchorro”, “trinche”, “espinel” y “atarraya” (Samamé y Castañeda, 1999).

Del mismo modo, se confirma que periodos posteriores a El Niño, tienen influencia positiva sobre la reproducción de esta especie; sin embargo, su proximidad a la costa hace que sea depredada por la pesca artesanal (Samamé y Castañeda, 1999).

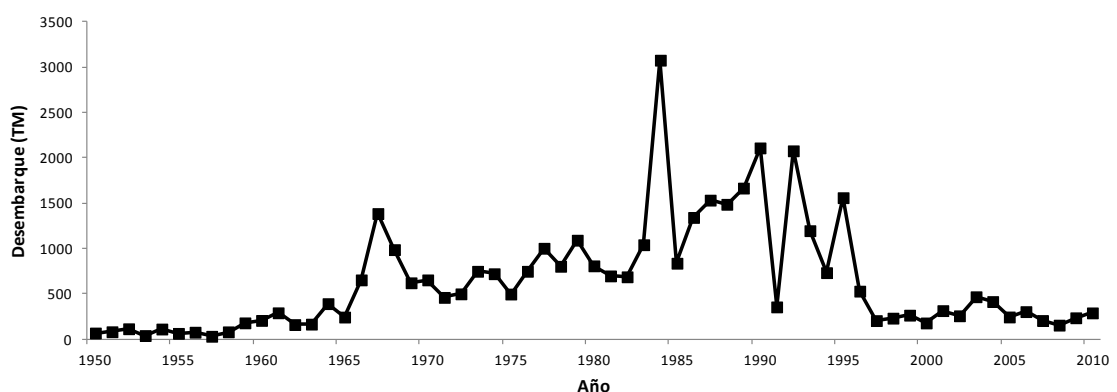


Figura 1: Desembarques de *Paralichthys adspersus* “lenguado” 1950 - 2010 (PRODUCE, 2011).

Las características reproductivas varían de una especie a otra, por eso es necesario establecer el desarrollo gonadal para cada especie de pez (Ferreira, 1986 en Bazzoli, 2003). Las escalas de madurez utilizadas generalmente son las macroscópicas o empíricas, es decir las basadas en la observación directa de características morfológicas externas de las gónadas, así como el color y la visibilidad de las células (Tresierra *et al.*, 2002); sin embargo, este tipo de aproximaciones son consideradas como un procedimiento subjetivo, más aun en el caso del lenguado que es un desovador parcial (Angeles y Mendo, 2005).

En tal sentido, la introducción de las técnicas histológicas permite conocer en detalle el desarrollo de las células sexuales (Tresierra *et al.*, 2002), realizando clasificaciones más precisas, a pesar de su mayor costo y tiempo empleado.

Por lo tanto, la presente tesis tiene por objetivo principal establecer la escala de madurez gonadal para hembras y machos de *P. adspersus* “lenguado” y así aportar conocimientos básicos del estado reproductivo de la población explotada y a las investigaciones relacionadas al cultivo en cautiverio de esta especie.

II. MARCO TEÓRICO

1. POSICIÓN TAXONÓMICA

La posición taxonómica del lenguado acorde con FISHBASE, es la siguiente:

- Reino: Animalia
- Phylum: Chordata
- Clase: Actinopterygii
- Orden: Pleuronectiformes
- Suborden: Pleuronectoidei
- Familia: Paralichthyidae
- Género: *Paralichthys*
- Especie: *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867)
- Nombre común: Lenguado

2. DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

En el pacífico sudeste su distribución es desde Paita (Perú) hasta Lota e Islas Juan Fernández (Chile). Habita aguas costeras con fondos de arena y alcanza profundidades mayores de 100 metros. Básicamente su distribución depende de la protección frente a la depredación, abundancia de alimento y la búsqueda de temperaturas adecuadas, profundizándose o alejándose de la costa en los meses con mayores temperaturas o con la presencia de El Niño.

3. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Kong y Castro (2002) nos describen a *P. adspersus* como de cuerpo es alto y elíptico, el lado ocular presenta escamas ctenoides y en el lado ciego, escamas cicloides. Línea lateral fuertemente curvada en su porción inicial, se continúa casi en línea recta hacia la región posterior. Cabeza grande y con el perfil casi recto; hocico un poco más

grande que el diámetro del ojo. Boca grande y oblicua. Branquiespinas cortas. Las narinas ubicadas en la lado ocular son de tamaño pequeño y situadas una al lado de la otra cercanas al perfil de la cabeza, similar a las narinas del lado ciego. Aleta dorsal alargada sin espinas, se inicia por encima o a nivel de la mitad del ojo; aletas pectorales cortas con radios rameados, su longitud corresponde casi a la mitad de la longitud de la cabeza en el lado ocular y casi un tercio de la longitud de la cabeza sobre el lado ciego; la base de las aletas pélvicas es corta y casi simétrica.

4. ALIMENTACIÓN

Es una especie depredadora cuyo principal alimento son los peces costeros que comparten su hábitat, además de crustáceos y moluscos. La alimentación de esta especie depende de la localidad y abundancia de las presas en las diferentes estaciones (Kong *et al.*, 1995). Por ejemplo Talledo (1985) en Ilo - Perú reporta como principal presa a *Scartichthys gigas* “pez borracho”; Kong *et al.* (1995), en el norte de Chile, a *Engraulis ringens* “anchoveta” y Samamé y Castañeda (1999), en el norte del Perú a *Sardinops sagax sagax* “sardina”.

5. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS

El dimorfismo sexual en esta especie no es marcado. Las hembras alcanzan mayores longitudes que los machos; además, se observa en las hembras, el poro genital detrás del ano en el lado ciego a diferencia de los machos que presentan un poro urogenital en el lado ocular, lo que permitiría diferenciarlos por sexos (Ángeles y Mendo, 2005).

Es un desovador parcial asincrónico, su época de reproducción se registra en la estación de primavera - verano (octubre - febrero). Presenta una talla de primera madurez gonadal de 21 cm y una talla media de desove de 60,4 cm para hembras y 43,1 cm para machos. Sus ovocitos maduros presentan un diámetro entre 665 y 805 μm (Ángeles y Mendo, 2005).

6. SISTEMA REPRODUCTOR DE HEMBRAS DE TELEÓSTEOS

- Estructura de los ovarios

En la mayoría de teleósteos, los ovarios son órganos pares, internos y tubulares. Se encuentran suspendidos a ambos lados de la cavidad del cuerpo por un par de mesenterios y están típicamente situados por debajo de los riñones y la vejiga natatoria (si ésta se encuentra presente).

Está constituido por ovogonias, ovocitos, células foliculares (granulosa y teca) que envuelven a éstos, tejido de soporte o estroma, tejido conectivo y nervioso y epitelio.

Tres tipos de ovarios han sido clasificados de acuerdo al patrón del desarrollo de los ovocitos (Vazzoler, 1996): El ovario sincrónico ("sincrónico total") contiene ovocitos en el mismo estadio de desarrollo; el grupo sincrónico ("sincrónico por grupos") está formado por al menos dos poblaciones de ovocitos en diferentes estadios de desarrollo y el ovario asíncrono contiene los ovocitos en todas las etapas de desarrollo, este tipo se produce en las especies que desovan muchas veces durante un prolongado período de desove.

- Ovogénesis

La primera fase en el desarrollo de los gametos femeninos es la proliferación celular. En esta fase las ovogonias entran en mitosis sufriendo varias divisiones celulares y se da inicio a la meiosis, deteniéndose en el diploteno de la primera profase. Es en este momento, cuando los ovocitos, a diferencia de los gametos masculinos, entran en una fase de crecimiento, que varía según las especies, pero que en general se debe a la acumulación de proteínas complejas que formarán el vitelo (entre ellas la vitelogenina). La vitelogenina es sintetizada en el hígado y transportada vía sanguínea hasta el ovario donde es incorporada a los ovocitos. Cuando el ovocito llega a su máximo estado de crecimiento al final de la vitelogénesis, está preparado para la fase de

maduración. Esta fase viene acompañada de diferentes cambios en el núcleo y el citoplasma del ovocito. El núcleo del ovocito (vesícula germinal) comienza una migración desde una posición central hasta su periferia en el polo animal donde se sitúa el micropilo. Una vez completada la migración hacia el polo animal, la membrana del núcleo se rompe y el nucleoplasma no puede ser distinguido del citoplasma. Los cromosomas se condensan y se alinean, se forma el huso acromático y la extrusión del primer corpúsculo polar: la meiosis I ha sido completada. La meiosis finalizará en el momento de la fertilización.

Cuando los ovocitos son ovulados, en muchos teleósteos marinos, hay un aumento rápido del tamaño, debido a la hidratación. Este proceso es especialmente pronunciado en los peces que desovan huevos pelágicos, los cuales flotan en el agua de mar. El resultado de la ovulación es la ruptura de folículos vacíos o post-ovulatorios (cuerpo lúteo). Los nuevos folículos son fácilmente identificables, pero degeneran rápidamente.

La época del año en que se produce esos eventos y la duración de cada una de estas fases varían de acuerdo a la especie.

- Atresia

La atresia es un proceso degenerativo por el cual ovocitos de varias etapas de desarrollo son reabsorbidos en el ovario. Pueden observarse en todos los estadios del ciclo reproductivo (Miranda *et al.*, 1999), aunque lo más común es observarla durante el periodo post-desove. La atresia se produce sobre los ovocitos que tras la puesta no han ovulado, pero puede afectar a los que están en desarrollo. Se divide en cuatro etapas (Hunter y Macewicz, 1985): alfa (α), beta (β), gamma (γ) y delta (δ). El término ovocito atrésico es reservado solo para los que se encuentran en la etapa α , que corresponde a la absorción del ovocito por las células de la granulosa hipertrofiadas;

las etapas subsecuentes son pasos en la reabsorción del folículo remanente (granulosa y teca) y la estructura en este punto es llamado atresia folicular.

7. SISTEMA REPRODUCTOR DE MACHOS DE TELEÓSTEOS

- Estructura de los testículos

En la mayoría de teleósteos, los testículos son un par de lóbulos elongados separados por un septo o independientes entre ellos, unidos a la pared dorsal del cuerpo. Un vaso deferente sale de la superficie mesodorsal de cada testículo, para alcanzar el poro urogenital. El tamaño y color varían de acuerdo al estadio de madurez gonadal.

Dentro del testículo, hay dos compartimentos: el germinal y el intersticial o estroma, separados entre ellos por una membrana basal. En el compartimento germinal, las células de Sertoli envuelven con sus extensiones citoplasmáticas un clon de células germinales (espermátogonias, espermátocitos, espermátidas y espermatozoides) en la misma etapa de desarrollo, formando un cisto. El compartimento germinal está envuelto y estructuralmente soportado por el compartimento intersticial o estroma, constituido por tejido conectivo, donde podemos encontrar células mioideas, fibroblastos, fibras de colágeno, vasos sanguíneos y células de Leydig.

La estructura testicular en teleósteos varía mucho entre especies, pero en general se pueden establecer dos tipos según la organización del tejido germinal: en teleósteos inferiores, el compartimento germinal está organizado en túbulos anastomosados, mientras que en teleósteos superiores están organizados en lóbulos ramificados. El tipo lobular se compone de numerosos lóbulos separados entre ellos por una fina capa de tejido conectivo. Durante la maduración, todas las células germinales del cisto son aproximadamente del mismo tipo de desarrollo, y tal como la espermatogénesis y la espermiogénesis avanzan, los cistos se expanden y se rompen liberando su contenido a una cavidad central, o lumen, que va hacia el ducto espermático.

- **Espermatogénesis**

La espermatogénesis es el proceso que se realiza en los testículos y viene a ser el desarrollo y maduración de las células sexuales primarias (espermatogonias) hasta llegar a espermatozoides.

Durante la espermatogénesis, las células germinales masculinas pasan por tres fases diferentes: proliferación mitótica (las espermatogonias se dividen por mitosis para formar espermatocitos primarios), meiosis (la primera división meiótica produce dos células hijas, los espermatocitos secundarios, y la segunda división meiótica da lugar a las espermatidas), y espermiogénesis (de espermatidas a espermatozoides). A diferencia de otros vertebrados, los espermatozoides de teleósteos carecen de acrosoma, ya que no necesitan digerir la zona pelúcida, sino que se introducen en el huevo directamente por una abertura, el micropilo, por la cual penetra un único espermatozoide. Las etapas de desarrollo de la espermatogénesis y espermiogénesis son distinguibles en base a sus características morfológicas nucleares y citoplasmáticas.

La espermiación en teleósteos implica una maduración o adquisición de motilidad del esperma, acompañado de una producción de fluido o hidratación de los ductos eferentes, proceso que es aparentemente dependiente de hormonas. Se piensa que la hidratación, por incremento de la presión lobular, permite al esperma migrar a los ductos deferentes donde es almacenado hasta su expulsión al exterior (Billard *et al.*, 1982).

8. MÉTODOS PARA DETERMINAR EL GRADO DE DESARROLLO GONADAL

- Escalas de madurez gonadal

El conocimiento de la actividad reproductiva en los peces, constituye uno de los aspectos de mayor importancia biológica, debido a que es una de las columnas del conocimiento de las especies que permiten el cálculo de la biomasa y del rendimiento pesquero. La determinación de los estadios de madurez gonadal, que es uno de los aspectos relacionados con la reproducción, se realiza actualmente basándose en características externas e internas de las gónadas.

- Escalas macroscópicas o empíricas

El reconocimiento ordinario de las fases de madurez gonadal se efectúa mediante escalas empíricas, las que han sido elaboradas en base a las características morfológicas externas de las gónadas, tales como: apariencia general, tamaño relativo con la cavidad ventral, forma, color, textura, presencia o ausencia de capilares sanguíneos y pigmentos, etc.

Se han desarrollado muchas escalas empíricas para la determinación del estadio de madurez, las que pueden aplicarse con ligeras modificaciones en diferentes especies. También existen varias escalas de madurez gonadal que han sido relacionadas con el ciclo reproductivo particular de cada especie; es decir están referidas a aquellas que poseen una bien definida y corta estación de desove, así como a peces que desovan más o menos continuamente a través de un largo período de tiempo.

- Escalas microscópicas o histológicas

Los estudios histológicos son actualmente una opción valiosa para validar las escalas de madurez gonadal, así como para observar los cambios estructurales de los ovarios y de los testículos.

Se basa en el análisis de cortes histológicos de gónadas. Produce información muy precisa del estadio de desarrollo de los gametos, aunque la interpretación es a

menudo confusa debido a las diferencias terminológicas entre los autores. En este tipo de análisis la estandarización terminológica es un aspecto fundamental y uno de los principales problemas.

III. OBJETIVOS

- Objetivo general

Establecer la escala de madurez gonadal del lenguado *Paralichthys adspersus*.

- Objetivos específicos

- Describir la morfología del sistema reproductor femenino y masculino.
- Caracterizar el desarrollo ovocitario y espermatogénico de *P. adspersus*.
- Caracterizar los estadios de madurez gonadal de hembras y machos de *P. adspersus* macroscópicamente y validarlas microscópicamente.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIAL BIOLÓGICO

En el presente estudio se utilizaron 162 ejemplares de *Paralichthys adspersus* “lenguado” provenientes de la zona litoral de los puertos de Huacho, Chancay, Ancón, Callao y Pucusana, costa central del Perú (Figura 2).

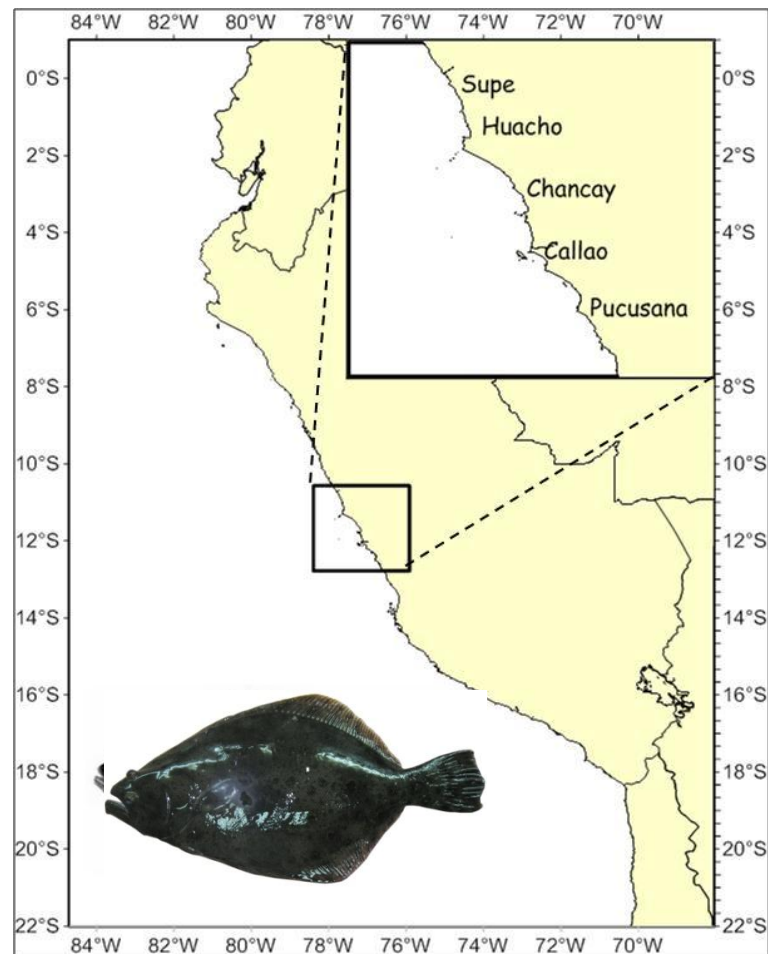


Figura 2: Zona de captura de *Paralichthys adspersus* “lenguado” para el presente estudio.

Estos peces se colectaron mensualmente utilizando diferentes artes de pesca tales como “red cortina”, “trasmallo” y en su gran mayoría “trinche” y “atarraya” (Figura 3).



Figura 3: Captura de ejemplares de *Paralichthys adspersus* “lenguado” utilizando atarraya.

2. MÉTODOS

2.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

Este estudio fue realizado en las instalaciones del laboratorio de Biología Reproductiva del Instituto del Mar del Perú (IMARPE).

2.2 EVALUACIÓN BIOMÉTRICA Y BIOLÓGICA DE LOS PECES

El muestreo biométrico y biológico se realizó inmediatamente después de la captura de los organismos. Se registró la longitud total al centímetro superior más cercano haciendo uso de un ictiómetro y el peso total en gramos utilizando una balanza electrónica de marca METTLER TOLEDO (capacidad: 3 kg; precisión: 0,1 g). Luego los peces fueron disectados para determinar el sexo, establecer características morfológicas externas de las gónadas y fotografiarlas. Además se registró el peso de la gónada e hígado y peso eviscerado del pez.

Las gónadas de machos y hembras fueron colectadas y fijadas con formol bufferado al 10% para su posterior procesamiento histológico.

2.3 PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE LAS GÓNADAS

El procesamiento histológico para desarrollar la escala de madurez gonadal se evaluó a través de la técnica de infiltración en parafina descrita por Humason (1979) (Figura 4), la cual se detalla brevemente a continuación:

- Preparación del tejido

Se realizaron cortes de las gónadas de aproximadamente 1 cm de espesor de los ovarios y testículos fijados previamente. Las muestras se colocaron en porta-muestras de aluminio, con su respectiva etiqueta de datos, dentro de una rejilla utilizada por el procesador automático de tejidos de marca LEICA.

- Deshidratación

La deshidratación de las muestras de tejido gonadal se realizó siguiendo secuencias crecientes de alcohol durante una hora (Figura 5). La utilización del procesador automático de tejidos permitió la automatización de este procedimiento.

- Aclaración

Las muestras se aclararon manualmente, sumergiéndolas en 2 recipientes con xilol durante un tiempo total de 6 min, para las hembras y 12 min para los machos. Si el tiempo no es el adecuado, no se permite el seccionamiento y posterior observación de las láminas histológicas.

- Infiltración con parafina

La infiltración de las muestras de tejido gonadal se realizó en parafina diluida, durante dos horas en el procesador automático de tejidos (Figura 5).

- Imbibición en parafina

En la estación de inclusión de marca LEICA se formaron bloques de parafina con el tejido gonadal procesado incluido. Se dejó solidificar.

- Seccionamiento

Se realizaron cortes transversales de forma trapezoidal de 7 μm de espesor de los ovarios y de 5 μm de los testículos, mediante el micrótopo de rotación de marca LEICA. Previamente las muestras de tejido gonadal en los bloques se enfriaron para un mejor seccionamiento.

- Estirado de las secciones

Las secciones trapezoidales cortadas se estiraron en un equipo de baños de flotación de tejidos de marca LEICA, seleccionando las mejores para colocarlas en el portaobjetos respectivo. Luego se dejaron secar en la plancha calefactora de marca LEICA a una temperatura de 40°C.

- Coloración

Se realizó en un coloreador automático de tejidos de marca LEICA. La técnica de tinción empleada fue hematoxilina-eosina, la cual colorea estructuras con componentes basófilos de color morado (hematoxilina) y estructura con componentes eosinófilos de color rosado (eosina).

- Montaje final

El montaje de las láminas fue con gotas de la solución entellan y colocando encima láminas cubreobjetos para su sellado y posterior observación bajo microscopia de luz.



Figura 4: Flujograma de la técnica de infiltración en parafina.

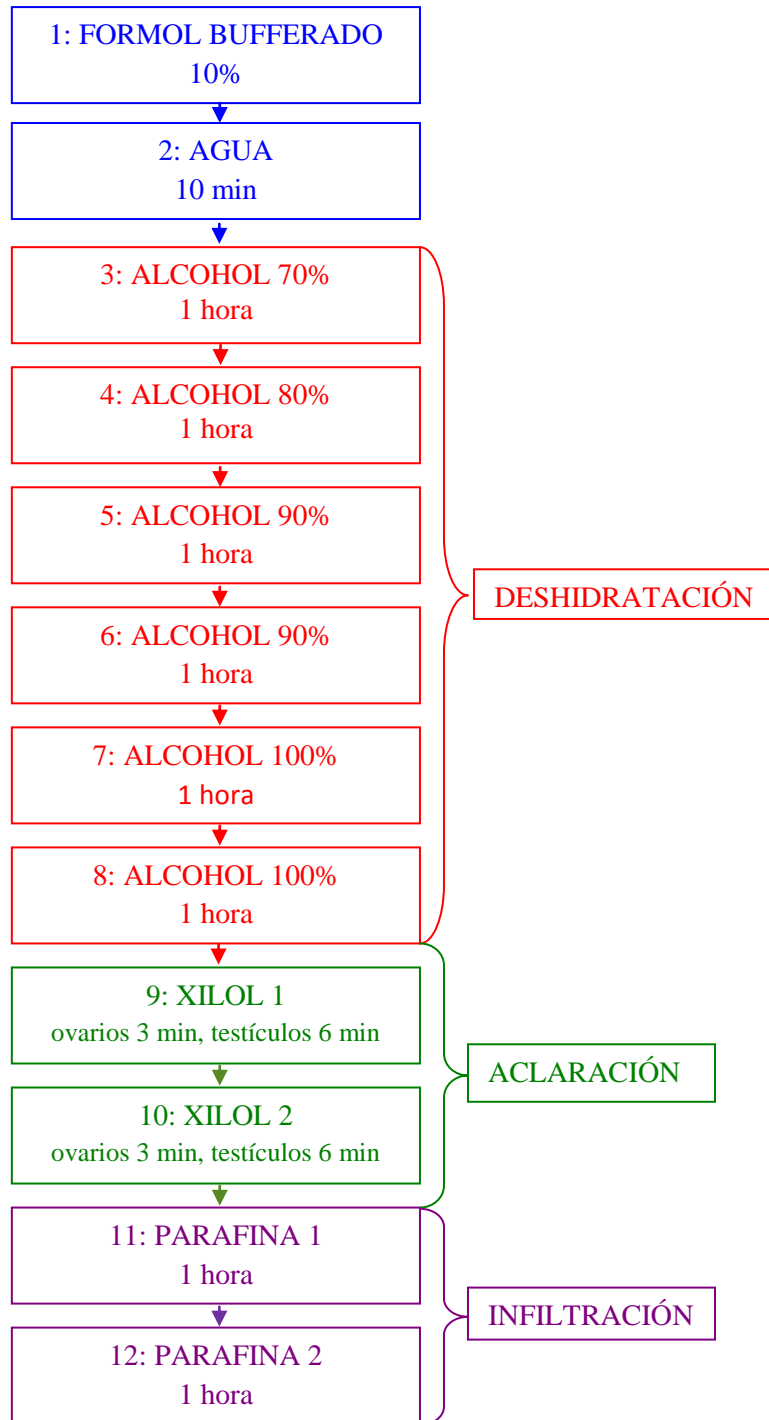


Figura 5: Flujograma de las estaciones del procesador automático de tejidos.

2.4 CARACTERIZACION DEL DESARROLLO DE LOS GAMETOS

- Caracterización de ovocitos

Morfológicas y cromáticas: Forma de la célula, apariencia del citoplasma, posición y apariencia del núcleo y nucleolos, presencia y apariencia de gránulos corticales y gránulos de vitelo, además composición y apariencia de las envolturas ovocitarias. La variación de la afinidad cromática de las estructuras también fue considerada.

Tamaño: Diámetro promedio de dos ejes perpendiculares de 100 ovocitos de cada tipo de ovocito (West, 1990). Solo los ovocitos que sean seccionados a través del núcleo y que no hayan sufrido mayor deformación fueron medidos y fotografiados utilizando un microscopio óptico NIKON Eclipse 90i con una cámara digital y el programa de imágenes NIS - ELEMENTS de este equipo. No se tomaron medidas de los ovocitos hidratados y atresia, por las irregularidades que muestran los ovocitos producto del procesamiento histológico.

Zona radiata: Medida en 50 ovocitos representativos de cada tipo.

- Caracterización de folículos post-ovulatorios (FPO)

Morfológicas: Apariencia de la teca, granulosa y lumen folicular.

- Caracterización de atresia ovocitaria (A)

Morfológicas y cromáticas.

- Caracterización de células espermatogénicas

Morfológicas y cromáticas: Apariencia del núcleo y citoplasma, además de la afinidad por los diferentes colorantes.

Localización en los lóbulos seminíferos.

Tamaño: Diámetro de 40 células espermatogénicas de cada tipo, en el caso de los espermatozoides solo se consideró el diámetro de la cabeza. Se utilizó un microscopio óptico NIKON Eclipse 90i con una cámara digital incorporada y el programa de imágenes NIS - ELEMENTS de este equipo.

2.5 HOMOGENEIDAD DEL OVARIO

Se utilizaron los ovarios de 13 hembras para determinar la variación del desarrollo gonadal entre las partes anterior, media y posterior de los ovarios derecho e izquierdo. En total se analizaron 78 láminas histológicas, en donde los porcentajes del tipo de ovocito más avanzado o en el caso de observar FPO, el tipo de folículo más avanzado ($F0 = \text{FPO FASE } 0$, $F0+ = \text{FPO FASE } 1 \text{ y/o FASE } 2$), fueron comparadas usando un test de chi cuadrado.

2.6 CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS POBLACIONES OVOCITARIAS

En hembras representativas de cada estadio de madurez gonadal, se tomó el diámetro promedio de dos ejes perpendiculares (West, 1990) de 100 ovocitos seccionados a través del núcleo y que no hayan sufrido mayor deformación.

2.7 ESCALA MICROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL

Hembras: Observación de los diferentes tipos de ovocitos, presencia de FPO y atresia, apariencia de lamelas, estroma y pared; evaluados en 1 a 3 campos visuales (40x, 100x, 200x) del corte histológico de los ovarios.

Machos: Observación de los diferentes tipos de células espermatogénicas, grado de desarrollo y llenura de los lóbulos seminíferos, grado de llenura de los ductos

eferentes y características particulares del estroma; evaluados en 1 a 4 campos visuales (40x, 100x, 200x, 600x) del corte histológico de los testículos.

2.8 ESCALA MACROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL

Hembras: Observación de variaciones en los ovarios con referencia al tamaño, coloración, consistencia, grosor de la pared, grado de vascularización superficial y visualización de los ovocitos.

Machos: Observación de variaciones en los testículos con referencia al tamaño, coloración, consistencia, turgencia, vascularización superficial y liberación del semen.

2.9 PROPORCIÓN SEXUAL POR GRUPOS DE LONGITUDES TOTALES

Se realizó la proporción entre el número de hembras y el total de individuos para cada intervalo de longitudes totales de 5 cm. Se utilizó una media móvil para visualizar la tendencia de las proporciones.

2.10 TALLA DE PRIMERA MADUREZ GONADAL

Para el cálculo de la talla o longitud de primera madurez gonadal se realizó la proporción entre hembras inmaduras (ovarios en Estadio 0) y hembras activas, es decir con actividad madurante (Estadio III, Estadio IV y Estadio V), para cada longitud. Los puntos reales fueron ajustados con el Método de Ajuste de Curva Logística a través del programa Curve Expert 1.4.

2.11 EVALUACIÓN DE OTROS PARÁMETROS INDICADORES DEL DESARROLLO GONADAL

El desarrollo gonadal también se evaluó a través de los parámetros: índice gonadosomático (IGS), índice hepatosomático (IHS) y factor de condición (K).

La estimación del IGS fue calculado a partir de la siguiente fórmula:

$$IGS = (PG \times 100)/PE$$

Donde: PG = Peso de la gónada (g)

PE = Peso eviscerado (g)

El IHS se determinó con la fórmula:

$$IHS = (PH \times 100)/PE$$

Donde: PH = Peso del hígado (g)

PE = Peso eviscerado (g)

El K fue estimado empleando el Método de Fulton (1904)

$$K = (PE \times 100)/LT^3$$

Donde: PE = Peso eviscerado (g)

LT = Longitud total (cm)

2.12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se elaboró la distribución del número de peces en cada estadio de madurez gonadal para las estaciones del año y la distribución porcentual del diámetro de los ovocitos por rangos de 10 µm (0-600 µm) para cada estadio de madurez gonadal en la caracterización morfométrica de las poblaciones ovocitarias.

Las variables de los parámetros IGS, IHS, K son presentadas como promedios con su desviación estándar (DS). Los cambios del IGS e IHS en los diferentes estadios de

madurez gonadal fueron analizados usando el análisis de varianza (ANDEVA) y la Prueba de comparación múltiple de Tukey.

Cuando fueron necesarios los datos fueron logaritmizados con el fin de cumplir con la normalidad que requieren los test paramétricos, la cual fue probada por el test de Kolmogorov - Smirnov.

Para todas las pruebas estadísticas se utilizó un nivel de significancia de 0,05 y los paquetes estadísticos MINITAB 15 y SYSTAT 12.

V. RESULTADOS

1. ÍNDICES MORFOMÉTRICOS

Durante el periodo de estudio se encontró un predominio de hembras, éstas representaron el 59,3 % mientras que los machos el 40,7 %. La longitud total de los individuos fluctuó de 19 a 55 cm; las hembras tuvieron una longitud total promedio de $34 \pm 6,5$ cm, y los machos de $31 \pm 3,7$ cm. El peso total de los individuos fluctuó de 68,7 a 2170,0 g; observándose en las hembras un promedio de $583,8 \pm 379,87$ g, y en los machos, un promedio de $380,14 \pm 123,55$ g (Tabla 1).

Tabla 1: Índices morfométricos de *Paralichthys adspersus* "lenguado" entre sexos. Parte superior de la fila: promedio \pm DS, Parte inferior de la fila: rango (R) y número de muestra (NM).

	Hembras	Machos
Longitud total (cm)	$34 \pm 6,5$ R: 20 – 55; NM: 96	$31 \pm 3,7$ R: 19-39; NM: 66
Peso total (g)	$583,8 \pm 379,87$ R: 76,4 – 2170; NM: 95	$380,1 \pm 123,55$ R: 68,7 – 697,4; NM: 66

2. MORFOLOGIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO

2.1 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA

El sistema reproductor de las hembras consiste en un par de ovarios unidos en su parte anterior por un solo oviducto, el cual se comunica directamente al exterior a través del poro genital, localizado en el lado ciego cerca a las aletas pélvicas, posterior al ano (Figura 6). Los ovarios están localizados en la cavidad peritoneal, posteriores a la masa visceral y ventralmente a la porción final del riñón (Figura 7 a). Para estudiar la estructura de este órgano, se dividió en tres partes: parte anterior, media y posterior (Figura 8). La parte anterior es aplanada y de mayor tamaño, con una proyección orientada hacia la porción final del riñón, de esta manera adopta una forma triangular. Los dos ovarios se encuentran unidos en la parte anterior por tejido mesentérico. La

parte media y posterior adoptan una forma tubular, se extienden hacia la región caudal y terminan con puntas redondeadas. A partir de la proyección de la parte anterior, los ovarios están separados por la porción central del esqueleto (Figura 7 b).

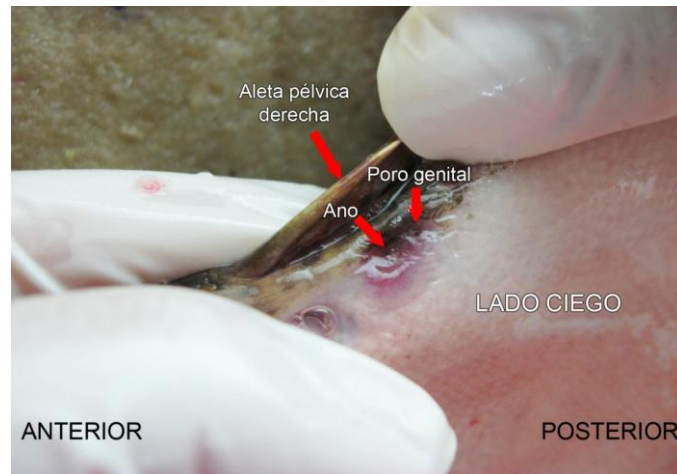


Figura 6: Poro genital y ano de hembra de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

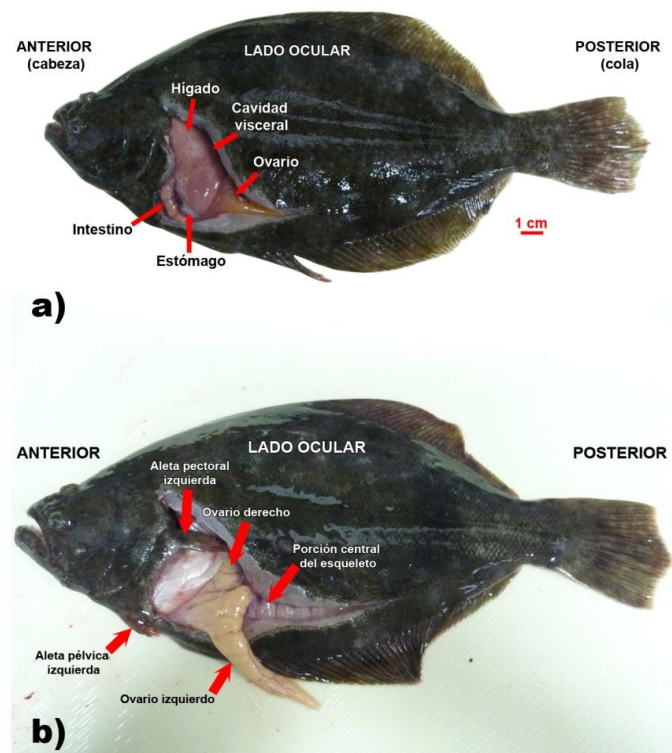


Figura 7: a) Localización del ovario. Escala 1 cm y b) Porción central del esqueleto de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

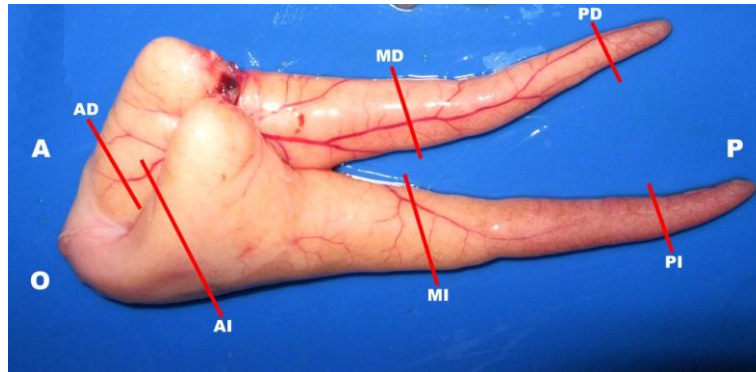


Figura 8: Partes y localización de los cortes del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: orientación anterior, P: orientación posterior, O: orientación del oviducto, AD: parte anterior derecha, MD: parte media derecha, PD: parte posterior derecha, AI: parte anterior izquierda, MI: parte media izquierda, PI: parte posterior izquierda.

2.2 MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA

Microscópicamente, se observó la pared que está conformada por tejido conectivo y fibras musculares lisas cubiertos por mesotelio. De esta pared varias prolongaciones denominadas lamelas, que están cubiertas en su superficie por epitelio germinal, crece hacia el extremo contrario de la pared dejando espacios entre ellas (lumen) (Figura 9). Las lamelas están sostenidas por el estroma (tejido conectivo vascular, rico en tejido elástico y muscular) que también se proyecta desde la pared del ovario. En el epitelio germinal, se encontró ovogonias y ovocitos de diferentes tipos (inmaduros, pre-vitelogénicos, vitelogénicos, maduros e hidratados), además de atresia y folículos post-ovulatorios.

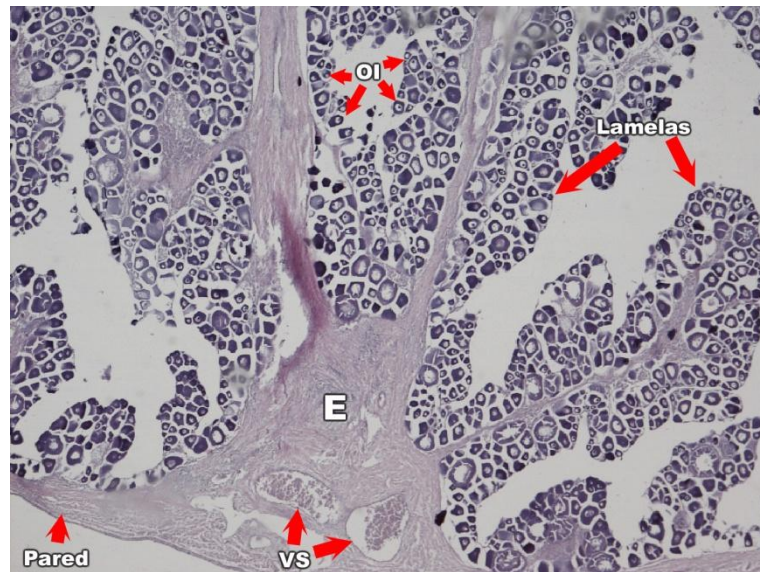


Figura 9: Proyección de lamelas del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Aumento: 40x. E: estroma, OI: ovocitos inmaduros, VS: vaso sanguíneo.

3. MORFOLOGIA DEL SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

3.1 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA

En la cavidad peritoneal se localizan un par de testículos, de forma ligeramente triangular, de cada uno emergen ventralmente ductos deferentes fusionándose para formar el ducto espermático, el cual se abre al exterior a través del poro urogenital (Figura 10 a), localizado en el lado ocular cerca a la aleta pélvica izquierda. Los testículos se encuentran posteriores a la masa visceral y ventralmente a la porción final del riñón (Figura 10 b). Gran parte de los testículos están divididos por la porción central del esqueleto, a excepción de la base anterior de los testículos triangulares por donde se encuentran unidos por tejido mesentérico. Uno de los vértices de los testículos está ubicado debajo de la porción final del riñón.

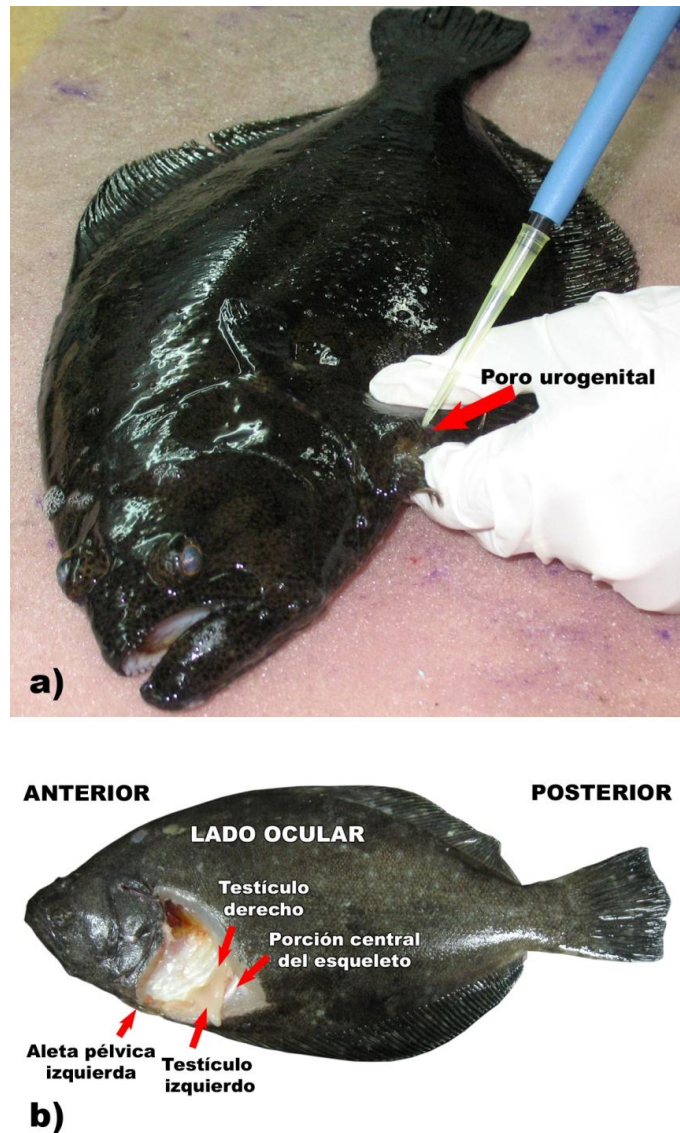


Figura 10: a) Poro urogenital y b) Localización del testículo y porción central del esqueleto de macho de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

3.2 MORFOLOGÍA MICROSCÓPICA

Con la finalidad de estudiar la histo-arquitectura de los testículos se dividió en tres partes: anterior, media y posterior y se procedió a realizar cortes histológicos de cada una de estas (Figura 11 a). A través de estos análisis se observó una delgada pared, conformada por tejido conectivo y fibras musculares lisas cubierta por mesotelio. Se puede diferenciar dos zonas principales: una periférica, denominada Zona de Crecimiento y otra central, denominada Zona de Colección (Figura 11 b y c). La Zona

de Crecimiento presenta los lóbulos seminíferos que se proyectan desde la Zona de Colección y a lo largo de las paredes de estos lóbulos están localizados los cistos (agrupaciones de células espermatogénicas del mismo tipo) (Figura 12 a). Observamos, que los cistos presentes son sólo de espermatogonias, espermatocitos y espermátidas, ya que al convertirse estos últimos en espermatozoides se liberan al lumen de los lóbulos. Mientras en la Zona de Colección se observa el sistema de ductos eferentes, donde se colectan y transportan los espermatozoides hacia el ducto deferente y posteriormente, al ducto espermático común donde salen al exterior (Figura 13). El examen microscópico revela que los lóbulos seminíferos y el sistema de ductos están sostenidos por el estroma (tejido conectivo vascular) que se proyecta desde la pared (Figura 12 b). La observación de todas las características de la Zona de Crecimiento y de Colección fue en los cortes de la parte media de ambos testículos; en tal sentido, en este trabajo se realizó sólo cortes medios de esta gónada (derecha o izquierda).

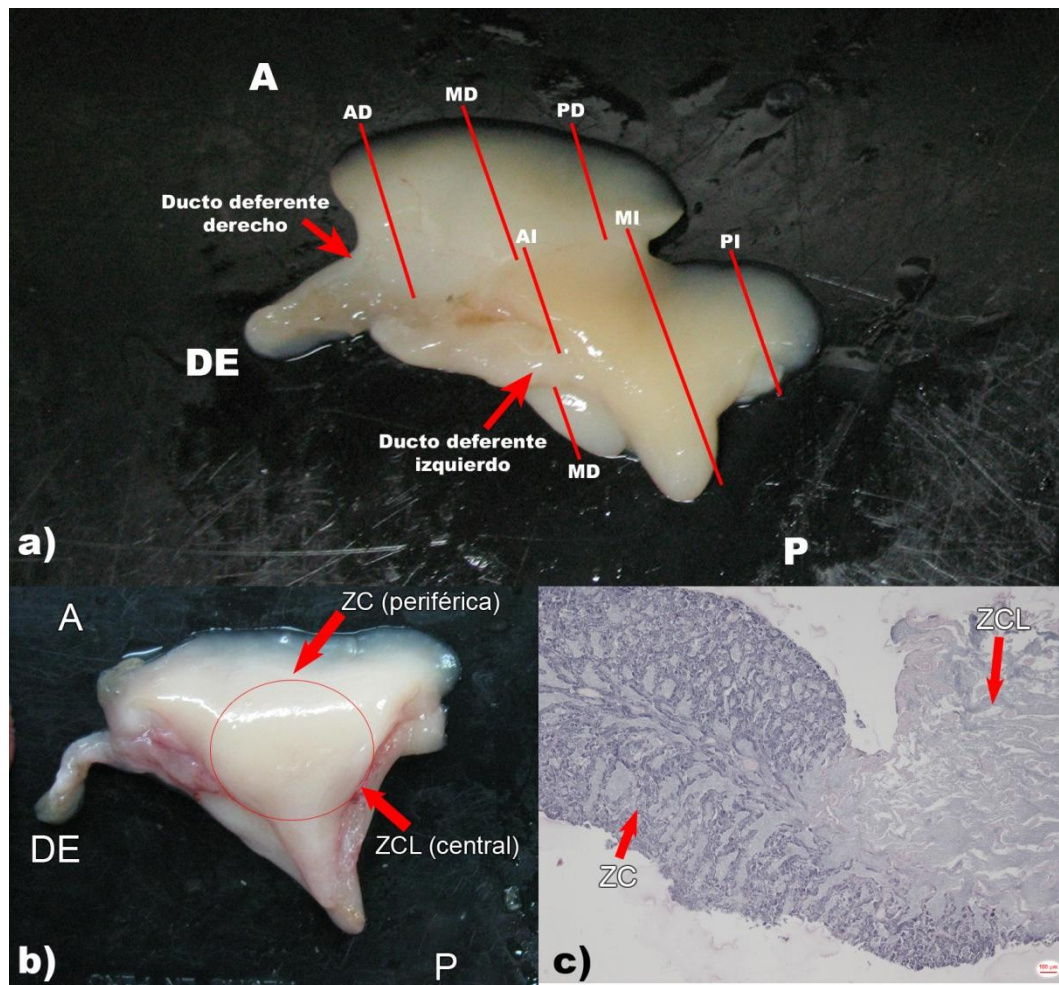


Figura 11: a) Partes y localización de los cortes de los testículos. b) Zona de Crecimiento (ZC) y de Colección (ZCL) macroscópicamente y c) ZC y ZCL microscópicamente de los testículos de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 100 μ m. Aumento 40x. A: orientación anterior, P: orientación posterior, DE: orientación del ducto espermático, AD: parte anterior derecha, MD: parte media derecha, PD: parte posterior derecha, AI: parte anterior izquierda, MI: parte media izquierda, PI: parte posterior izquierda.

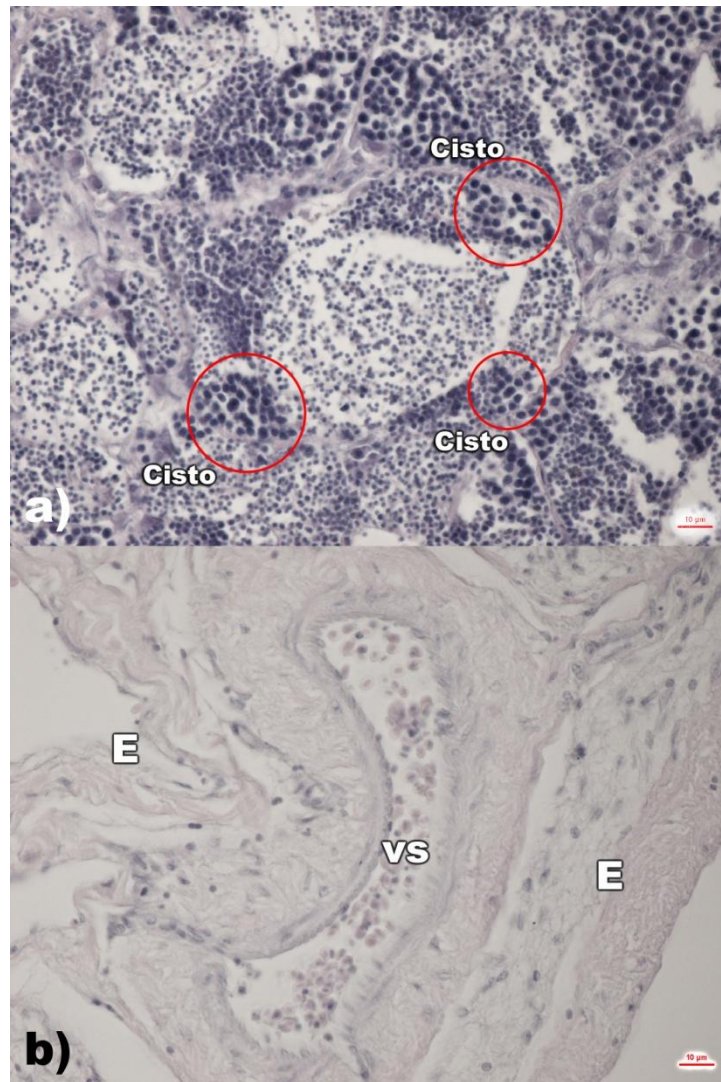


Figura 12: a) Cistos de células espermatogénicas y b) Estroma del testículo del lenguado *Paralichthys adspersus*. Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: estroma, VS: vaso sanguíneo.

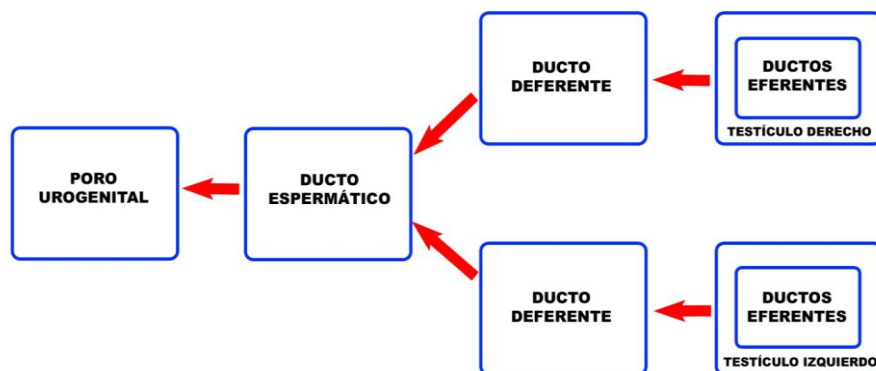


Figura 13: Esquema del sistema reproductor masculino de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

4. CARACTERIZACIÓN DEL DESARROLLO DE LOS GAMETOS

4.1 DESARROLLO OVOCITARIO

En las láminas histológicas de los ovarios, se observaron ovogonias (O) y varios tipos de ovocitos desarrollados a partir de éstas por el proceso de ovogénesis. Se clasificó a los ovocitos en cinco tipos según su desarrollo (Tabla 2).

Tabla 2: Tipos y características de ovocitos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

Tipo	Tamaño (μm)	Núcleo	Nucleolo	Presencia de gránulos corticales o gránulos o placas de vitelo	Presencia de zona radiata o granulosa o teca	Zona radiata (μm)
Ovagonia (O)	< 11,42	Ocupa mayor volumen que el citoplasma. Central. Contiene gránulos de cromatina dispersos	No distinguible			
Inmaduro (OI)	11,42 - 86,75	Ocupa mayor volumen que el citoplasma. Central	Destaca uno o dos			
Pre-vitelogénico (OPV)	64,91 - 250,94	Ocupa menor volumen que el citoplasma. Central	Numerosos	Gránulos corticales	Zona radiata y granulosa	2,02 ± 0,46
Vitelogénico (OV)	131,67 - 346,05	Ocupa menor volumen que el citoplasma. Central	Numerosos	Gránulos corticales y gránulos de vitelo	Zona radiata, granulosa y teca	4,04 ± 0,93
Maduro (OM)	279,54 - 480,96	Ocupa menor volumen que el citoplasma. Central y en fases avanzadas migración hacia el polo animal	Numerosos	Gránulos corticales y gránulos de vitelo	Zona radiata, granulosa y teca	5,58 ± 1,13
Hidratado (OH)		Disuelto		Gránulos corticales y placas de vitelo		

- Ovogonias (O)

Las ovogonias tienen forma esférica, un núcleo que ocupa un mayor volumen que el citoplasma y de afinidad cromática ligeramente basófila y se puede observar gránulos de cromatina dispersos (Figura 14). Las ovogonias pueden medir 11,42 μm o menos y se observan en grupos.

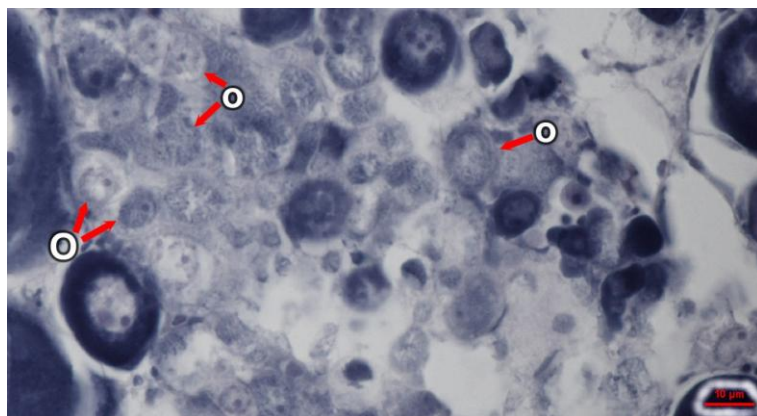


Figura 14: Ovogonias (O) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 10 μm. Aumento: 600x.

- Ovocito Inmaduro (OI)

Los ovocitos inmaduros tienen forma esférica, un citoplasma con pequeño volumen en relación al núcleo y de afinidad cromática fuertemente basófila, un núcleo central con uno a dos nucleolos prominentes que posteriormente incrementan en número y se ubican hacia el lado interno de la membrana nuclear (Figura 15). El tamaño de los ovocitos de este tipo varía de 11,42 a 86,75 μm, con un promedio de $39,53 \pm 14,96$ μm.

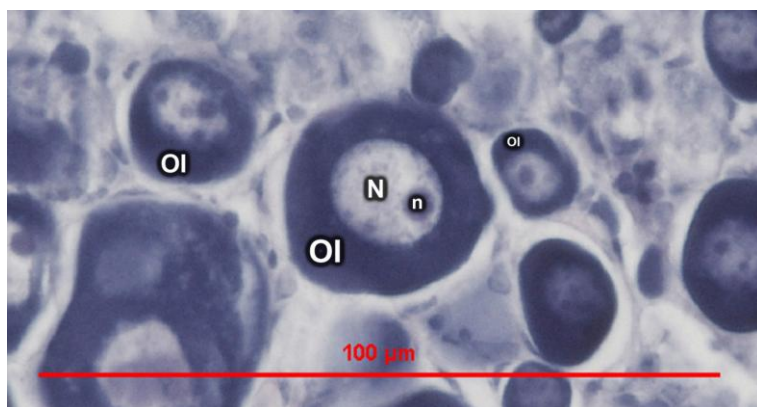


Figura 15: Ovocito inmaduro (OI) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μm. Aumento: 400x. N: núcleo, n: nucleolo.

- Ovocito Pre - Vitelogénico (OPV)

Presentan forma esférica, un citoplasma de afinidad cromática basófila que ocupa un mayor volumen que el núcleo, el cual es central y contiene numerosos nucleolos ubicados, la gran mayoría en su margen interno. La principal característica de este tipo de ovocito es la presencia en el citoplasma de gránulos aparentemente vacíos denominados gránulos corticales, los cuales se incrementan en tamaño y número, y se ubican desde las zonas distales del citoplasma hacia la periferia del núcleo. En cuanto a las envolturas del ovocito, se pueden observar claramente en fases avanzadas del estadio, una delgada membrana de afinidad acidófila sobre la membrana celular, denominada “zona radiata” (grosor promedio $2,02 \pm 0,46 \mu\text{m}$) y alrededor de ésta, células aisladas de afinidad basófila que formarán la “granulosa” (Figura 16). Los ovocitos pre-vitelogénicos tienen un rango de diámetros de 64,91 a 250,94 μm , con un promedio de $130,62 \pm 41,65 \mu\text{m}$.

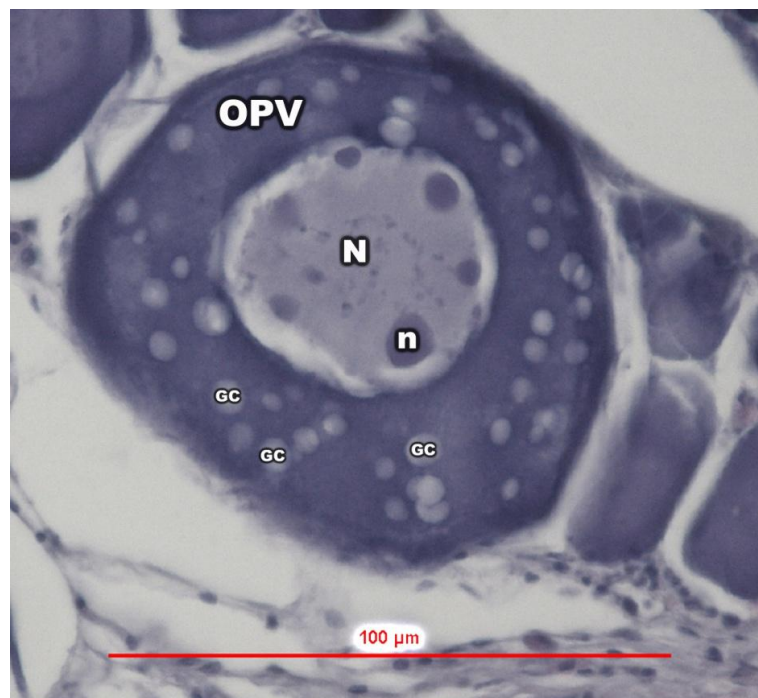


Figura 16: Ovocito pre-vitelogénico (OPV) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μ m. Aumento: 400x. GC: gránulo cortical, N: núcleo, n: nucleolo.

- Ovocito Vitelogénico (OV)

En este estadio se inicia la vitelogénesis exógena. Los ovocitos se observan de forma esférica, con un núcleo central y numerosos nucleolos ubicados, la gran mayoría cerca a los márgenes internos del núcleo. La afinidad cromática del citoplasma basófilo disminuye por la incorporación de los gránulos de vitelo de afinidad acidófila, que se multiplican e incrementan en tamaño difundiéndose hacia el interior. Los gránulos corticales son más visibles alrededor del núcleo. Se distingue las células de la granulosa, células columnares con grandes espacios intercelulares, y también se observa otra capa de tejido conectivo vascular, denominada “teca” de afinidad basófila. La zona radiata asume una apariencia estriada, con un grosor promedio de $4,04 \pm 0,93$ μ m (Figura 17). Ovocitos de este tipo miden de 131,67 a 346,05 μ m, con un promedio de $252,70 \pm 51,93$ μ m.

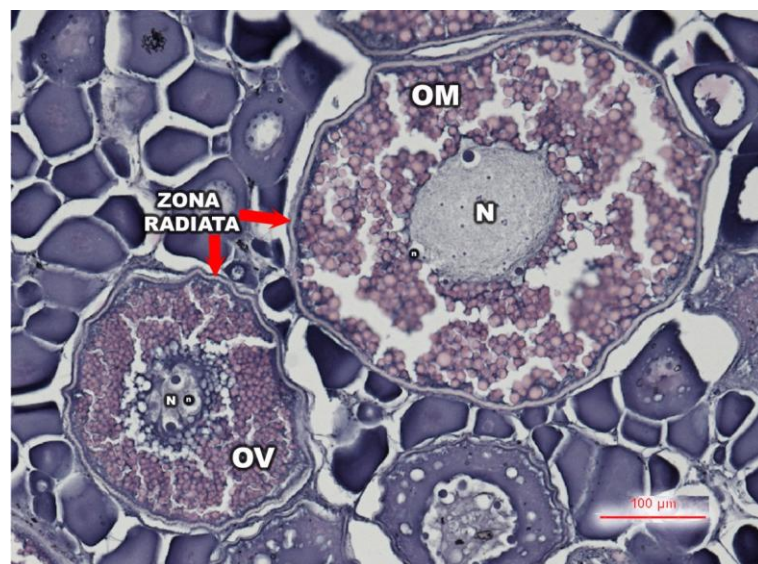


Figura 17: Ovocito vitelogénico (OV) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μ m. Aumento: 100x. N: núcleo, n: nucleolo, OM: ovocito maduro.

- Ovocito Maduro (OM)

Los ovocitos se encuentran en fase activa de vitelogénesis, caracterizada por la multiplicación de los gránulos de vitelo que ocupan totalmente el citoplasma. Mantienen su forma esférica, con un núcleo central y con numerosos nucleolos, de los cuales, los más pequeños están dispersos en el núcleo, y los más grandes, cerca al margen interno del núcleo. Los gránulos corticales, mayormente visibles alrededor del núcleo, comienzan a unirse. Es evidente la teca, granulosa y zona radiata (Figura 18 a), ésta última incrementa su grosor (promedio $5,58 \pm 1,13 \mu\text{m}$). El ovocito de este tipo puede llegar a medir $480,96 \mu\text{m}$, con un promedio de $375,34 \pm 38,53 \mu\text{m}$. En fases avanzadas hay migración del núcleo hacia el polo animal, por esta razón se denominan ovocito maduro con núcleo migratorio (Figura 24).

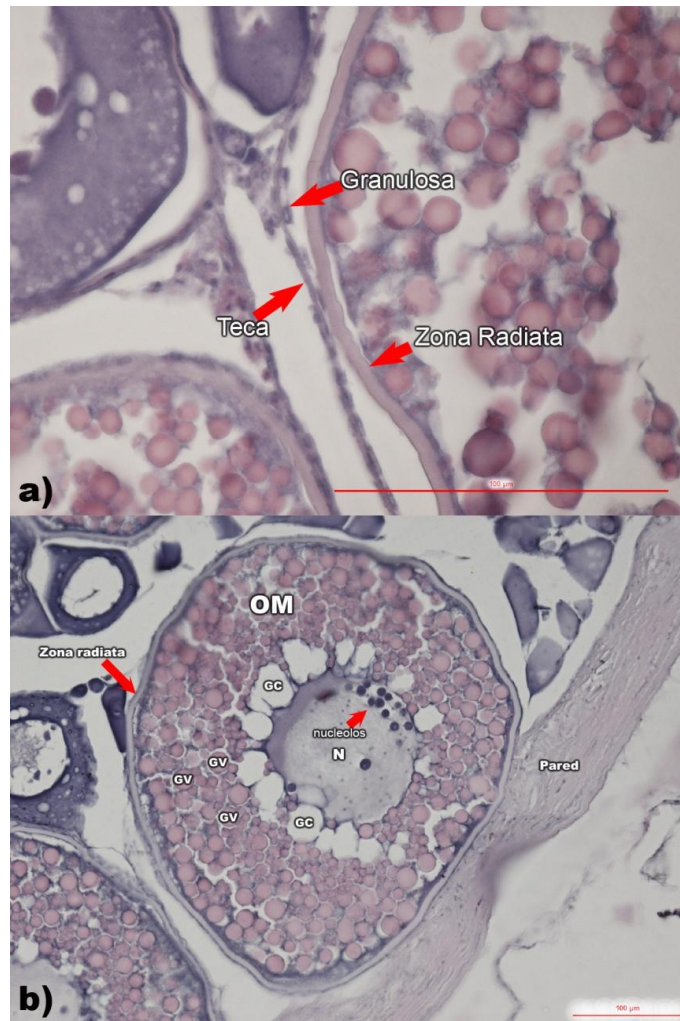


Figura 18: a) Teca, granulosa y zona radiata de ovocito maduro. Escala: 100 μ m. Aumento: 400x y b) Ovocito maduro (OM) de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 100 μ m. Aumento: 100x. GC: gránulo cortical, GV: gránulo de vitelo, N: núcleo.

- Ovocito Hidratado (OH)

Los ovocitos en este estadio se observan como una masa homogénea de afinidad cromática acidófila de forma irregular o colapsada, resultado de la deshidratación por el procesamiento histológico (Figura 19). El incremento del tamaño es evidente pero no se tomaron medidas por las irregularidades presentadas.

Durante este estadio ocurre la disolución del núcleo, los gránulos de vitelo comienzan a unirse para formar placas de vitelo, los gránulos corticales visibles alrededor del

núcleo, se fusionan para formar las gotas de aceite que persisten hasta la fase de embrión. Los ovocitos incrementan su tamaño por la rápida incorporación de agua en el citoplasma para su posterior ovulación y desove.

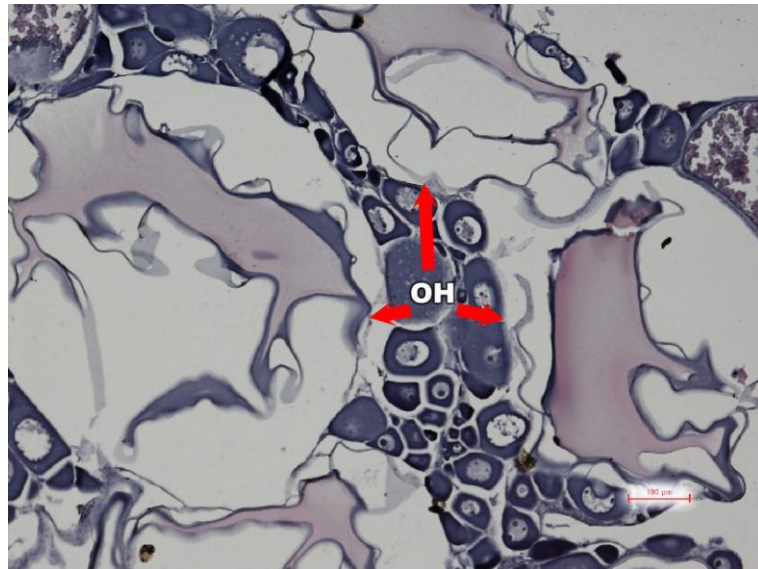


Figura 19: Ovocito hidratado (OH) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 100x.

4.2 FOLÍCULO POST-OVULATORIO (FPO)

Es la evidencia en las lamelas de un ovocito ovulado. Los folículos post-ovulatorios presentan un lumen y una pared conformada por la granulosa y teca que quedan después de la ovulación, observándose hasta su reabsorción y tienen una forma irregular con muchos pliegues. Se presentaron tres tipos de FPO, clasificados según su grado de reabsorción: FPO FASE 0 (Figura 20 a), caracterizado por la observación de un lumen (espacio en el interior) y un espacio entre la teca y granulosa, muy marcados; FPO FASE 1 (Figura 20 b), donde se observa la granulosa desorganizada, el espacio del lumen es menor al igual que el espacio entre la granulosa y teca pero identificables; FPO FASE 2 (Figura 20 c), con una evidente disminución del tamaño,

lumen ausente al igual que el espacio entre la granulosa y teca, se presentan dificultades para distinguirlo de un ovocito en atresia.

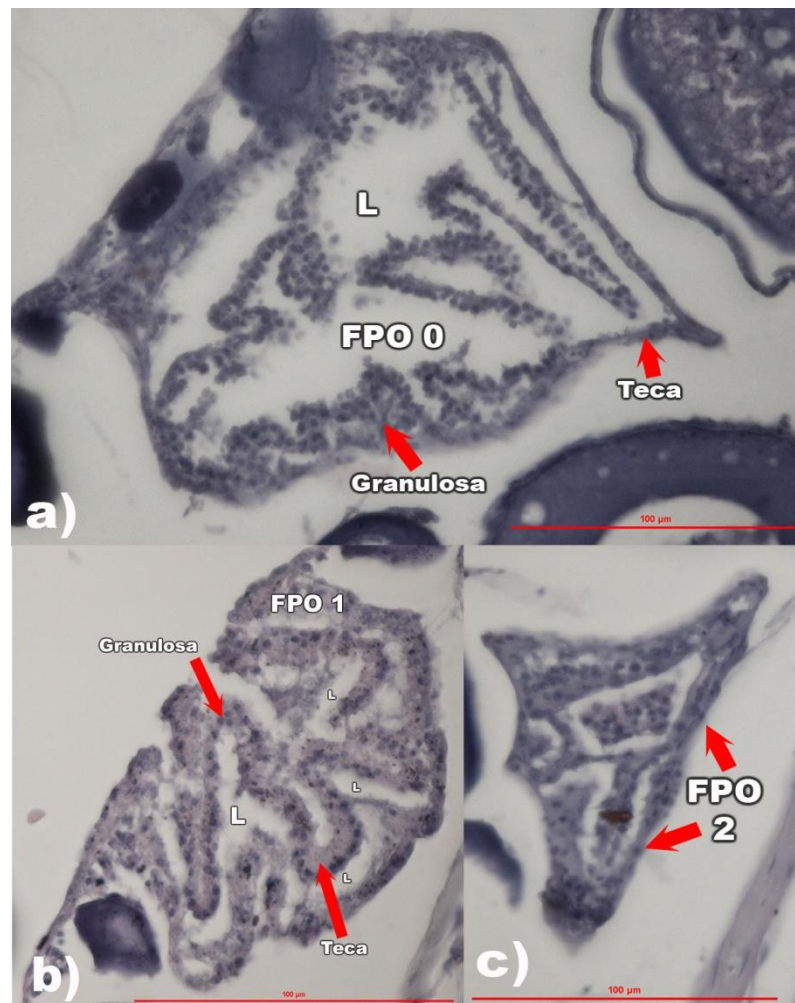


Figura 20: Folículo post-ovulatorio (FPO) a) FASE 0, b) FPO FASE 1 y c) FPO FASE 2 de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 µm. Aumento: 400x.
L: lumen.

4.3 ATRESIA (A)

Los ovocitos en atresia son ovocitos en proceso de reabsorción. Presentan una disminución de tamaño, un citoplasma desorganizado, disolución de la membrana nuclear y ruptura de su membrana y de la zona radiata (si está presente), con la consecuente invasión de las células de la granulosa hipertrofiadas que digieren y reabsorben el contenido citoplasmático de afuera hacia adentro; en el caso de los

ovocitos vitelogenados, actúan principalmente sobre el vitelo observándose una masa de afinidad cromática eosinófila con vacuolización (Figura 21 a). En fases avanzadas de atresia la desintegración celular es evidente, se puede distinguir una delgada teca, vacuolización y espacios intercelulares vacíos (Figura 21 b).

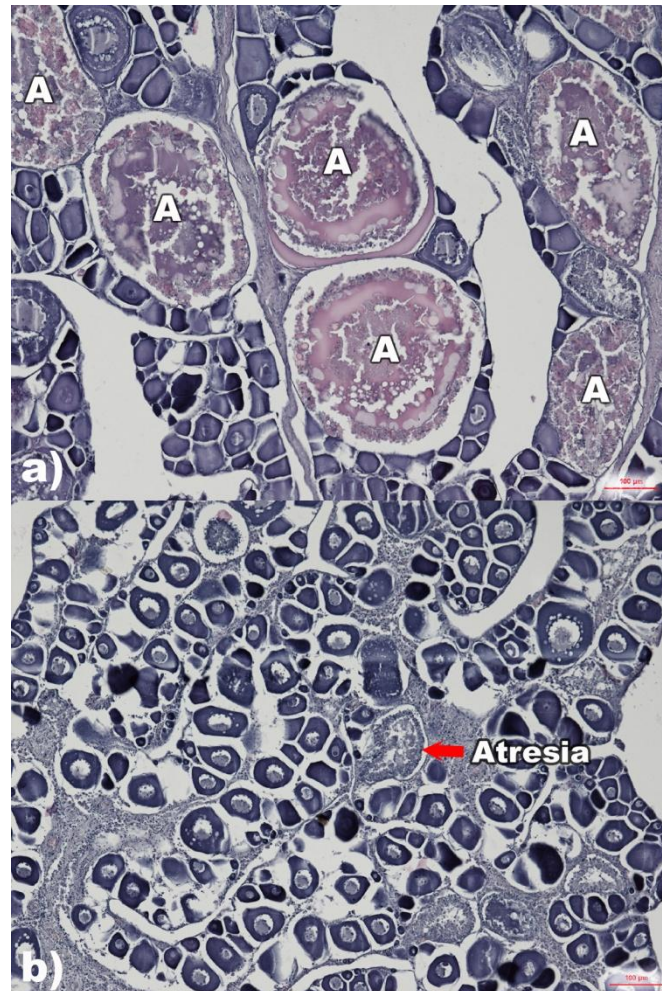


Figura 21: a) Ovocitos en atresia (A) y b) Ovocitos en A en fase avanzada de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 100 µm. Aumento: 100x.

4.4 DESARROLLO ESPERMATOGÉNICO

En las láminas histológicas de los testículos cuatro tipos de células espermatogénicas fueron identificados (Tabla 3).

Tabla 3: Tipos y características de células espermatogénicas de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. H-E: Coloración hematoxilina-eosina.

Tipo	Tamaño (µm)	Núcleo	Afinidad cromática del citoplasma	Localización
Espermatogonia (SP)	5,77 ± 1,12	Posición central, ocupa mayor volumen en relación al citoplasma	Levemente basófilo	Periferia de los lóbulos seminíferos
Espermatocito (SPC)	3,70 ± 0,46	Posición central, ocupa mayor volumen en relación al citoplasma y contiene cromatina en forma de grumos	Levemente basófilo	Periferia de los lóbulos seminíferos
Espermátida (SPD)	3,01 ± 0,44	Posición central, ocupa mayor volumen en relación al citoplasma	Levemente basófilo	Periferia de los lóbulos seminíferos
Espermatozoide (SPZ)	1,84 ± 0,43 (cabeza)	Conforma la cabeza del espermatozoide	No visible con H-E	Lumen de los lóbulos seminíferos y en el sistema de ductos eferentes

- Espermatogonia (SP)

Las espermatogonias son células esféricas que adquieren las mayores dimensiones entre las células espermatogénicas, tienen un diámetro promedio de $5,77 \pm 1,12 \mu\text{m}$. Presentan un citoplasma reducido en relación al volumen del núcleo, de características basófilas frente a la coloración H-E (Hematoxilina–Eosina) y con un núcleo central. Suelen ser visibles gránulos de cromatina en el núcleo. Los cistos con este tipo de células se localizan en la periferia de los lóbulos seminíferos (Figura 22).

- Espermatocito (SPC)

Más pequeñas que las espermatogonias y de forma esférica. Tienen un diámetro promedio de $3,70 \pm 0,46 \mu\text{m}$. Presentan un citoplasma reducido en relación al núcleo, con poca afinidad cromática (ligeramente basófilo) y un gran núcleo central con cromatina visible en forma de grumos. Los cistos con espermatocitos se ubican la periferia de los lóbulos seminíferos (Figura 22).

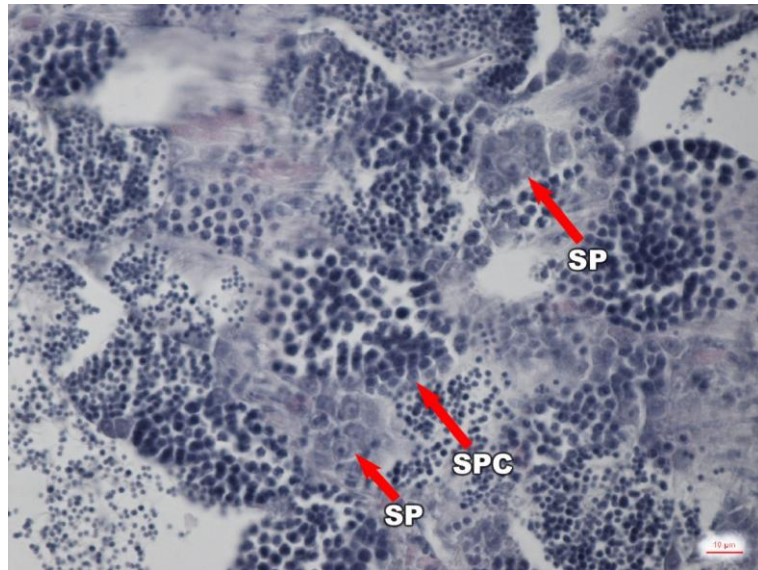


Figura 22: Espermatogonia (SP) y espermatocito (SPC) de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 10 μ m. Aumento: 600x.

- Espermatídas (SPD)

Las espermatídas adquieren menores tamaños que los espermatocitos, con un diámetro promedio de $3,01 \pm 0,44 \mu\text{m}$. Tienen forma esférica, un citoplasma de tamaño reducido en relación al núcleo y de afinidad cromática ligeramente basófila. Presentan un núcleo perfectamente visible y fuertemente basófilo. Las espermatídas están distribuidas a lo largo de la pared de los lóbulos seminíferos. Estas células a través de la espermiogénesis, se transforman en espermatozoides. Las espermatídas son las que se observan con más frecuencia (Figura 23).

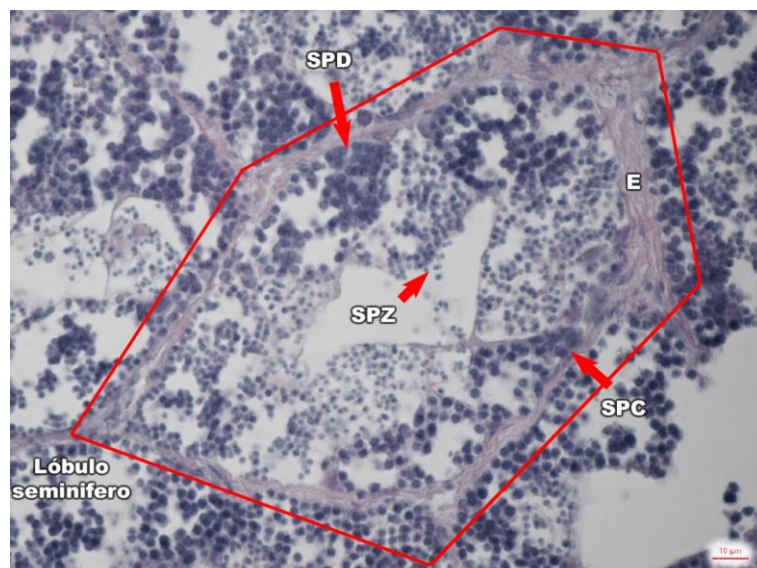


Figura 23: Espermatidas (SPD) y espermatozoides (SPZ) de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: Estroma, SPC: espermatoocito.

- Espermatozoides (SPZ)

Los espermatozoides poseen dos partes una cabeza y una cola (Nagahama, 1983). La primera está conformada por el núcleo de forma esférica, afinidad cromática fuertemente basófila, de un diámetro promedio de $1,84 \pm 0,43 \mu\text{m}$. La cola no se puede diferenciar con este tipo de coloración. Los espermatozoides se observan en el lumen de los lóbulos seminíferos y en el sistema de ductos eferentes de la Zona de Colección de los testículos (Figura 24).

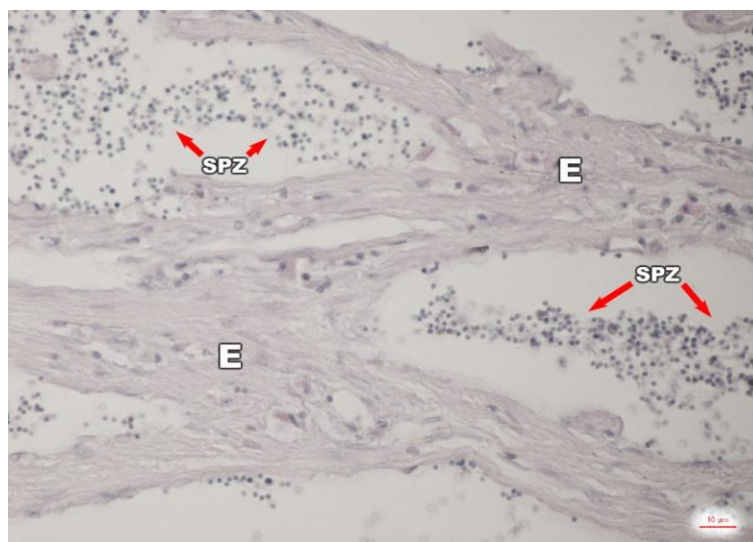


Figura 24: Espermatozoide (SPZ) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

Escala: 10 µm. Aumento: 600x. E: estroma.

5. HOMOGENEIDAD DEL OVARIO

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas en el desarrollo gonadal entre los ovarios derecho e izquierdo ($p>0,05$) (Figura 25) y entre las partes anterior, media y posterior ($p>0,05$) (Figura 26). Es decir, el estadio microscópico de madurez gonadal se puede determinar a partir del análisis histológico de cualquier parte del ovario derecho o izquierdo; sin embargo, se eligió la parte anterior por contener mayor cantidad de tejido.

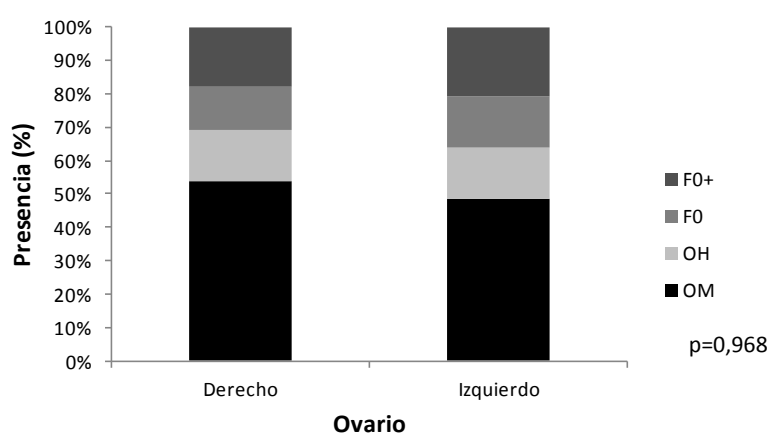


Figura 25: Presencia en porcentaje de los tipos de ovocitos y folículos post-ovulatorios en cada ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. F0: folículo post-ovulatorio FASE 0, F0+: folículo post-ovulatorio FASE 1 y/o FASE 2, OH: ovocito hidratado, OM: ovocito maduro.

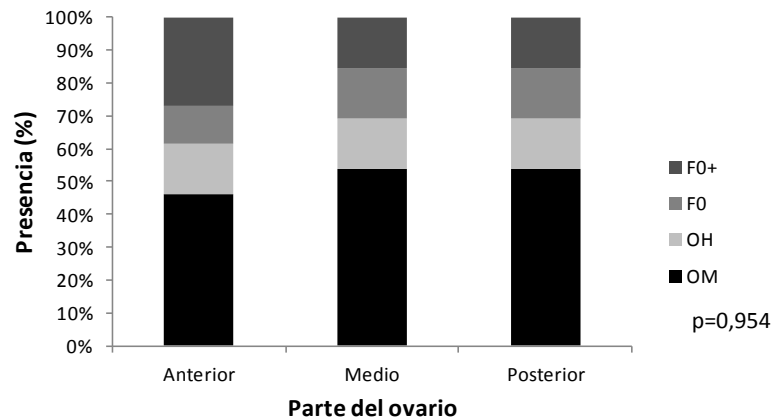


Figura 26: Presencia en porcentaje de los tipos de ovocitos y folículos post-ovulatorios en cada parte del ovario de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. F0: folículo post-ovulatorio FASE 0, F0+: folículo post-ovulatorio FASE 1 y/o FASE 2, OH: ovocito hidratado, OM: ovocito maduro.

6. CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS POBLACIONES OVOCITARIAS

En la figura 27, se muestra la distribución porcentual del diámetro de los ovocitos en cada estadio de madurez gonadal. En los peces inmaduros (Estadio 0), se observa una mayor frecuencia de ovocitos entre 41 – 50 μm . En los peces en maduración (Estadio II), se observa ovocitos hasta 480 μm y un porcentaje menor, que el estadio anterior, de ovocitos en los primeros intervalos de diámetros. En los peces maduros (Estadio III), el número de ovocitos sigue disminuyendo en los primeros intervalos de diámetros, sin embargo aumenta en los mayores diámetros, observándose hasta 490 μm . Los peces desovantes (Estadio IV) muestran un patrón similar a los maduros. El número de ovocitos de menores diámetros aumenta en el estadio recuperación (Estadio V) y se puede observar ovocitos hasta 170 μm . Los peces en estadio inactivo

(Estadio I) presentan una mayor frecuencia entre 41 – 50 μm , además el número de ovocitos en menores intervalos es mayor que en los otros estadios excepto que en el estadio inmaduro y se observa ovocitos hasta 190 micrómetros. En todos los estadios se observa una distribución continua del diámetro de los ovocitos.

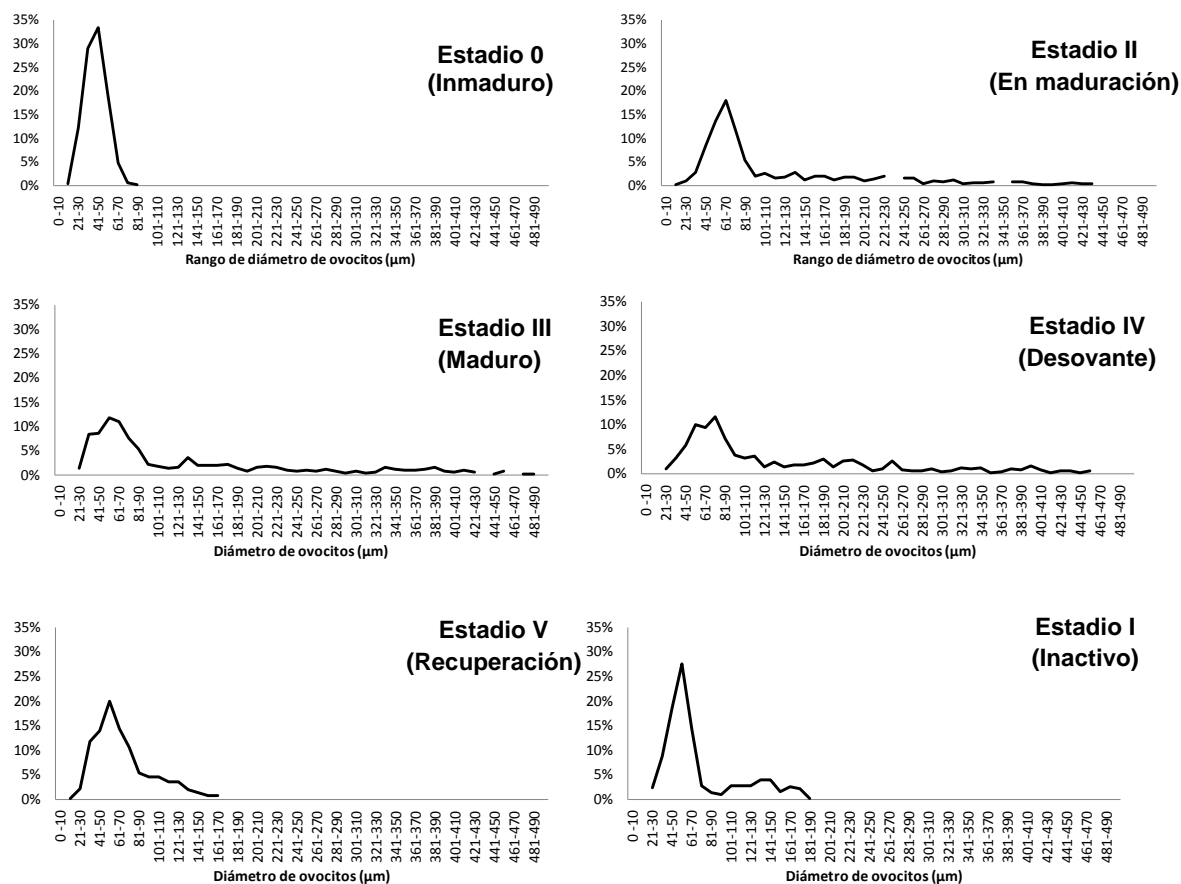


Figura 27: Caracterización morfométrica de las poblaciones ovocitarias de los estadios de madurez de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

7. ESCALAS DE MADUREZ GONADAL

7.1 ESCALA MICROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL

7.1.1 Hembras

La caracterización histológica de la gónada en general y de cada tipo de ovocito permitió establecer una escala de madurez gonadal microscópica con 6 estadios de desarrollo (Tabla 4).

Tabla 4: Estadios y sus características de la escala microscópica de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.

Estadio	Pared del ovario	Lamelas	Vasos sanguíneos en el estroma	Tipos de ovocitos	FPO	Atresia
Inmaduro (Estadio 0)	+	*	A	O, OI y OPV	A	A
En maduración (Estadio II)	++	**	A	O, OI, OPV y OV	A	A
Maduro (Estadio III)	++	***	A	O, OI, OPV, OV y OM	A	A
Desovante (Estadio IV)	+	**	P	O, OI, OPV, OV, OM y OH	P	P
Recuperación (Estadio V)	+++	**	P	O, OI, OPV, OV y OM	A	A
Inactivo (Estadio I)	+++	*	A	O, OI y OPV	A	A

+ = Pared del ovario delgada
 ++ = Pared del ovario gruesa
 +++ = Pared del ovario muy gruesa

* = Lamelas poco proyectadas
 ** = Lamelas medianamente proyectadas
 *** = Lamelas muy proyectadas

- Inmaduro (Estadio 0)

El estroma ocupa pocos espacios, las lamelas muestran claramente sus proyecciones y se observa un gran lumen. Las ovogonias, ovocitos inmaduros y ovocitos pre-vitelogénicos, en algunos casos, están presentes cubriendo las lamelas (Figura 28 a).

- En Maduración (Estadio II)

En este estadio comienza la maduración gonadal. La pared aumenta su grosor y el estroma se desarrolla, ocupando mayores espacios, las lamelas alcanzan mayor proyección observándose más juntas; y por lo tanto, el lumen se reduce. Se observan

ovogonias, ovocitos inmaduros y en su mayor proporción, pre-vitelogénicos y vitelogénicos (Figura 28 b). La observación de este estadio es poco frecuente.

- Maduro (Estadio III)

Los ovocitos dominantes son los maduros, encontrándose también ovocitos vitelogénicos, pre-vitelogénicos e inmaduros. Además, pueden ser observados ovocitos con núcleo migratorio. La pared se encuentra estirada por el aumento del volumen del ovario producto de la maduración de los ovocitos. El estroma ocupa mayor volumen. Las lamelas no son fáciles de visualizar porque se muestran bien compactas, en consecuencia, el lumen es poco visible (Figura 28 c y d).

- Desovante (Estadio IV)

La pared se muestra delgada. En el estroma se observan vasos sanguíneos bien desarrollados. Las proyecciones de las lamelas disminuyen y el espacio del lumen aumenta. La característica más notable de este estadio es la presencia de ovocitos hidratados (Figura 28 e) y/o folículos post-ovulatorios (Figura 28 f); además, se observa ovocitos maduros, vitelogénicos, pre-vitelogénicos e inmaduros. Algunos ovocitos hidratados se muestran en el lumen.

- Recuperación (Estadio V)

La pared se observa gruesa. Los vasos sanguíneos continúan en el estroma. También se sigue observando la pérdida de las proyecciones de las lamelas. Un gran número de ovocitos en atresia es observado en un porcentaje mayor al 50 % de los ovocitos vitelogenados (ovocitos vitelogénicos y maduros). Esta generalización de atresia indica la finalización del proceso reproductivo. Se observan además ovocitos inmaduros, pre-vitelogénicos, vitelogénicos y maduros (Figura 28 g).

- Inactivo (Estadio I)

La pared se mantiene engrosada y se observa el gran volumen alcanzado por el estroma, en algunos casos, se observan vasos sanguíneos en este último. Se recupera la visualización de las proyecciones de las lamelas. Ovocitariamente no hay diferencia con el estadio inmaduro (Estadio 0): presenta ovogonias, ovocitos inmaduros y pre-vitelogénicos, en algunos casos (Figura 28 h). Una vez finalizado el desove los ovarios entran en inactividad hasta el próximo período de reproducción.

7.1.2 Machos

Los análisis microscópicos de los testículos permitieron describir la histo-arquitectura de estos órganos. Con estas observaciones se describió 6 estadios de madurez gonadal (Tabla 5).

Tabla 5: Estadios y sus características de la escala microscópica de madurez gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

Estadio	SPZ en el lumen de los lóbulos seminíferos	SPZ en los ductos eferentes	Estroma	Células espermatogénicas
Inmaduro (Estadio 0)	Pocos SPZ en el lumen de la gran mayoría	Pocos SPZ	+	SP, SPC, SPD, SPZ
En maduración (Estadio II)	Aumenta los SPZ en el lumen	Aumenta los SPZ	++	SP, SPC, SPD, SPZ
Maduro (Estadio III)	Gran cantidad de SPZ en el lumen	Gran cantidad de SPZ	+++	SP, SPC, SPD, SPZ
Expulsante (Estadio IV)	Lumen de varios con gran cantidad de SPZ y algunos vacíos	Menor cantidad de SPZ	++	SP, SPC, SPD, SPZ
Post-expulsante (Estadio V)	Disminuye cantidad de SPZ en el lumen y algunos vacíos	Menor cantidad de SPZ	++	SP, SPC, SPD, SPZ
Inactivo (Estadio I)	Pocos SPZ en el lumen de la gran mayoría	Pocos SPZ	+++	SP, SPC, SPD, SPZ

+ = Estroma de poco volumen
 ++ = Estroma de volumen medio
 +++ = Estroma de mucho volumen

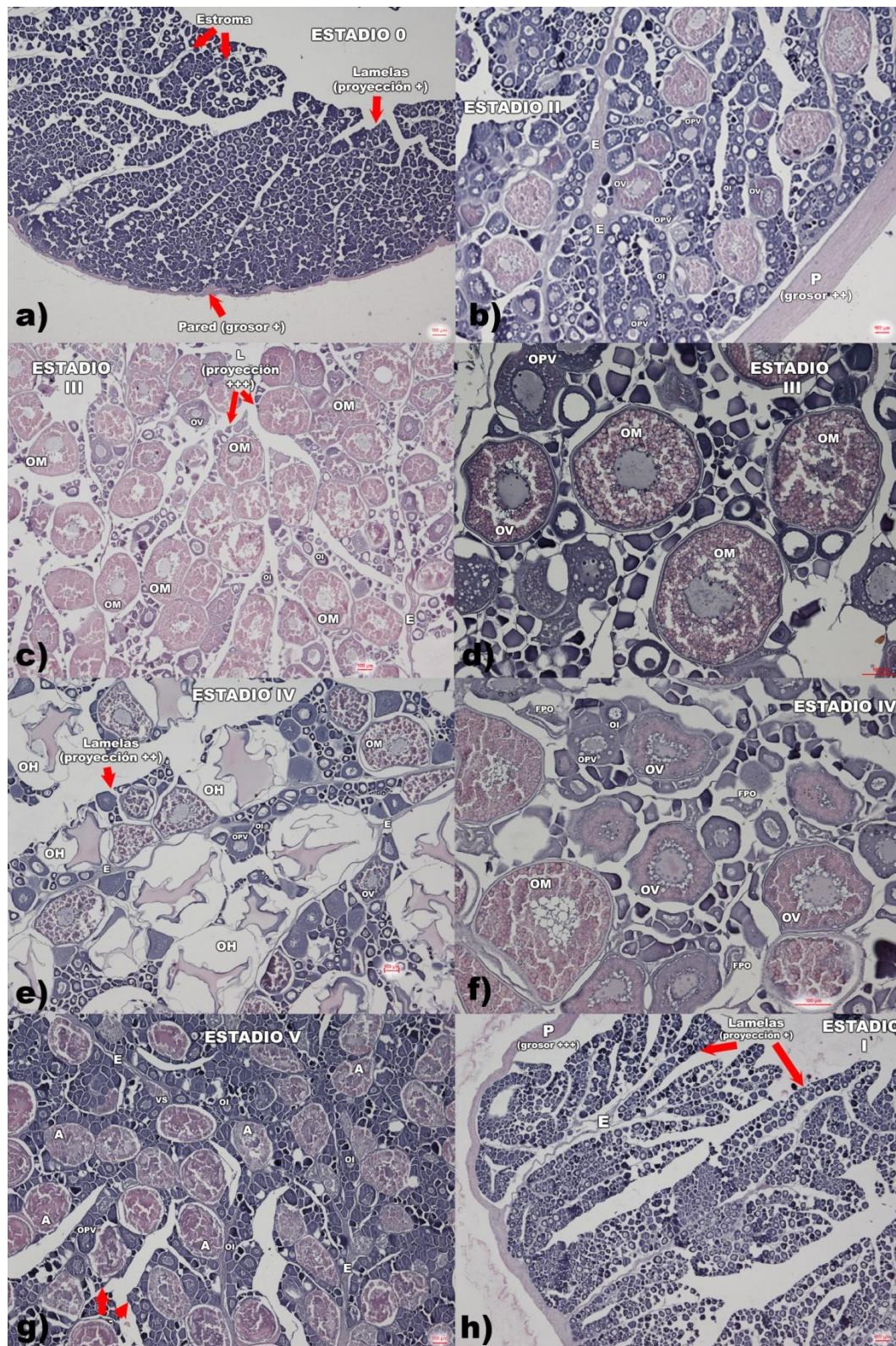


Figura 28: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c), d) Estadio maduro (Estadio III), e) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de ovocitos hidratados, f) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de folículos post-ovulatorios, g) Estadio recuperación (Estadio V) y h) Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. A: atresia, E: estroma, FPO: folículo post-ovulatorio, L: lamelas, OH: ovocito hidratado, OI: ovocito inmaduro, OM: ovocito maduro, OPV: ovocito pre-vitelogénico, OV: ovocito vitelogénico, P: pared, VS: vaso sanguíneo.

- Inmaduro (Estadio 0)

En la Zona de Crecimiento (Figura 11 c) observamos lóbulos seminíferos con cistos de espermatogonias, espermatocitos y espermatidas. En la gran mayoría de los lúmenes de cada lóbulo se observan pocos espermatozoides. En la Zona de Colección (Figura 11 c) hay presencia de espermatozoides en los ductos eferentes en pequeñas cantidades (Figura 29 a).

- En Maduración (Estadio II)

Los lóbulos seminíferos contienen cistos en diferentes grados de desarrollo espermatogénico en sus paredes y espermatozoides en su lumen, los cuales son perfectamente visibles. La Zona de Colección igualmente muestra un crecimiento de la cantidad de espermatozoides en relación al estadio anterior. El estroma alcanza un mayor volumen (Figura 29 b).

- Maduro (Estadio III)

El lumen de los lóbulos seminíferos se encuentra ocupado totalmente por espermatozoides dándole el aspecto de turgencia. Los cistos de los diferentes tipos de células espermatogénicas pueden ser observados en la periferia de cada lóbulo aunque en menor proporción al estadio II. En los ductos eferentes los espermatozoides incrementan grandemente su densidad. El estroma alcanza un gran desarrollo en volumen siendo posible observar la vascularización en este estadio de madurez (Figura 29 c).

- Expulsante (Estadio IV)

Algunos lúmenes de los lóbulos seminíferos se observan turgentes producto de la espermiación y algunos menos turgentes producto de la liberación de los espermatozoides hacia los ductos eferentes. La Zona de Colección puede contener zonas muy turgentes con espermatozoides o zonas semi-vacías producto de la expulsión. El estroma se observa comprimido (Figura 29 d y e).

- Post-Expulsante (Estadio V)

Los lóbulos seminíferos contienen cistos en sus paredes en mayor proporción en relación al estadio anterior; además sus lúmenes se observan poco llenos de espermatozoides. Los ductos eferentes de la Zona de Colección se observan vacíos o casi vacíos producto de la expulsión de espermatozoides. El estroma aumenta en volumen (Figura 29 f y g).

- Inactivo (Estadio I)

Características similares al estadio 0, pero presenta un estroma que ocupa un mayor volumen (Figura 29 h). Este estadio sólo se observó en machos mantenidos en cautiverio.

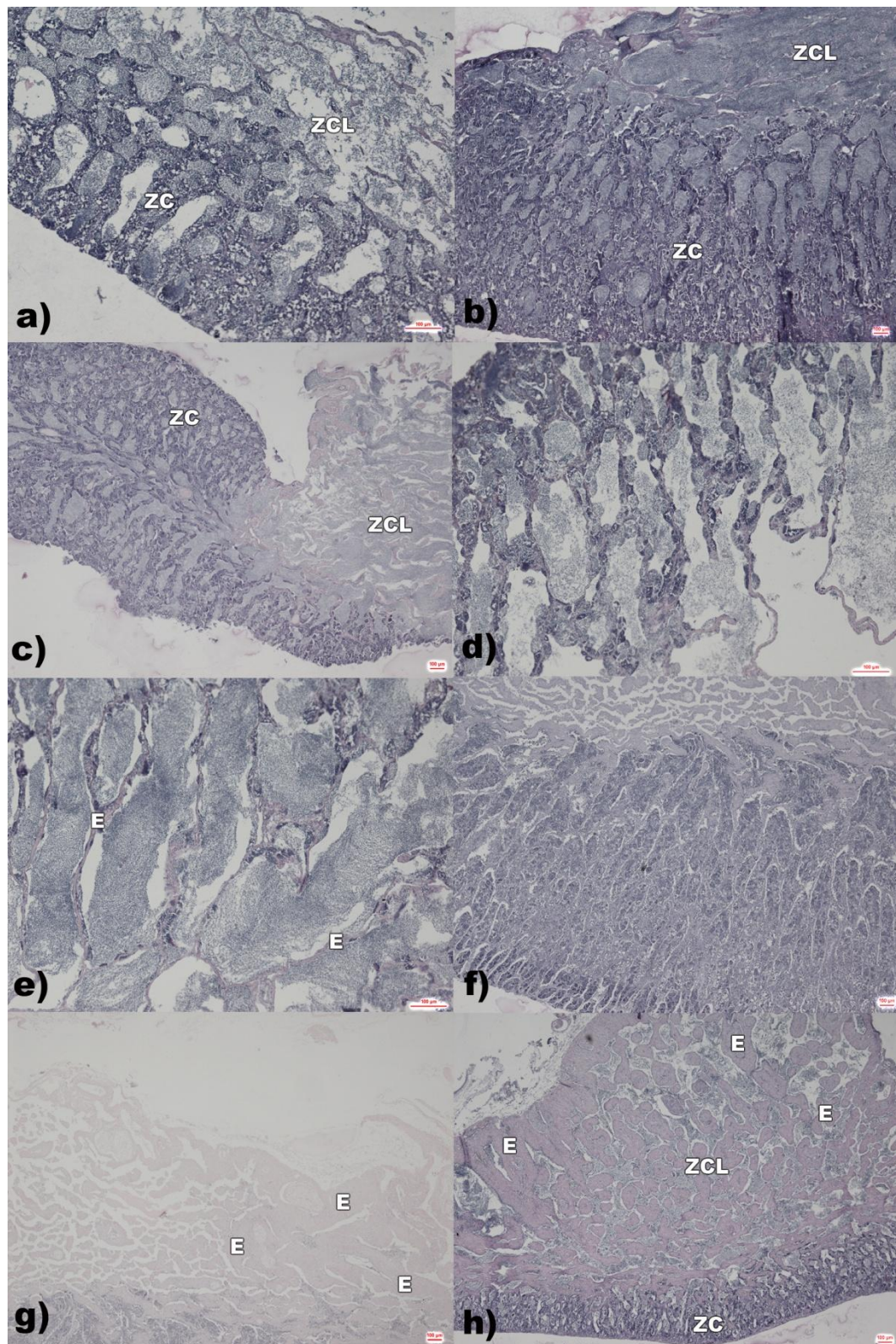


Figura 29: a) Estadio inmaduro (Estadio 0). Escala: 100 µm. Aumento: 40x, b) Estadio en maduración (Estadio II). Escala: 100 µm. Aumento: 40x, c) Estadio maduro (Estadio III). Escala: 100 µm. Aumento: 40x, d) Zona de crecimiento del estadio expulsante (estadio IV). Escala: 100 µm. Aumento: 100x, e) Zona de Colección del estadio expulsante. Escala: 100 µm. Aumento: 100x, f) Zona de Crecimiento del estadio

post-expulsante (estadio V). Escala: 100 μ m. Aumento: 40x, g) Zona de Colección del estadio post-expulsante. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x y h) Estadio inactivo (estadio I) de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. E: estroma, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.

7.2 ESCALA MACROSCÓPICA DE MADUREZ GONADAL

7.2.1 Hembras

A partir de las características macroscópicas del ovario, las cuales fueron validadas histológicamente, se estableció una escala con 6 estadios de desarrollo (Tabla 6).

Tabla 6: Estadios y sus características de la escala macroscópica de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.

Estadio	Tamaño del ovario	Color del ovario	Consistencia del ovario	Pared del ovario	Vascularización del ovario	Ovocitos
Inmaduro (Estadio 0)	+	Rosado a naranja claro	*	Delgada		A
En maduración (Estadio II)	++	Naranja	*	Delgada	-	P
Maduro (Estadio III)	++	Naranja		Delgada	--	P
Desovante con OH (Estadio IV)	+++	Naranja		Delgada	--	P
Desovante con FPO (Estadio IV)	+++	Naranja	***	Delgada	---	P
Recuperación (Estadio V)	++	Naranja claro	**	Gruesa	-	P
Inactivo (Estadio I)	+	Naranja claro	*	Gruesa		A
+ = Ovarios pequeños vascularización ++ = Ovarios medianos +++ = Ovarios grandes						
* = Ovarios poco flácidos ** = Ovarios medianamente flácidos *** = Ovarios muy flácidos						
- = Ovarios con leve -- = O. con vascularización media --- = O. con mayor vascularización						

- Inmaduro (Estadio 0)

Ovarios pequeños, de coloración rosada, en fases tempranas del estadio, a naranja claro en fases más avanzadas. Pueden ser firmes o ligeramente flácidos. La pared es delgada y no hay presencia de vascularización superficial. No se visualiza ovocitos a

simple vista (Figura 30 a). Los ovarios en este estadio pueden pesar de 6,5 g a menos y corresponden a individuos de longitudes totales menores o iguales a 34 cm.

- En Maduración (Estadio II)

El tamaño del ovario se incrementa con respecto al estadio anterior y el color se torna más oscuro. La ligera flacidez continúa. La pared es delgada con signos de vascularización superficial. Se puede observar unos pocos ovocitos blanquecinos (ovocitos vitelogénicos) a simple vista. Las partes media y posterior no son muy grandes (Figura 30 b). Los ovarios pesan de 7,9 a 14,5 g. Los individuos en este estadio pueden medir 31 cm o más.

- Maduro (Estadio III)

Los ovarios continúan incrementando su tamaño, ocupando gran parte de la cavidad abdominal extendiéndose hasta casi dos tercios del cuerpo. La coloración es naranja. Firmes al tocarlos. La pared presenta una visible vascularización, se observa claramente los vasos sanguíneos principales y secundarios. Ovocitos blanquecinos (ovocitos maduros) son visibles a simple vista (Figura 30 c). Los pesos presentados variaron de 7,4 a 54,4 g, correspondientes a individuos con longitudes de 31 cm o más.

- Desovante (Estadio IV)

En este estadio los ovarios alcanzan su máximo tamaño. La coloración es naranja. Encontramos dos tipos, basados en la observación de ovocitos hidratados y folículos post-ovulatorios:

- Ovarios que presentan ovocitos hidratados: La pared es delgada y bien turgente. Se observan ovocitos translúcidos (ovocitos hidratados) a través de la pared, entre

los ovocitos blanquecinos. A pequeña presión la pared puede romperse y los ovocitos salir con mucha facilidad (Figura 30 d).

- Ovarios que presentan folículos post-ovulatorios: Se presenta una reducción del tamaño y gran flacidez de los ovarios. Se sigue observando ovocitos blanquecinos y, también se puede observar en mucho menor porcentaje ovocitos translúcidos (Figura 30 e).

El peso en este tipo de ovario varió de 8,5 a 44,9 g y corresponde a individuos que miden 32 cm o más.

- Recuperación (Estadio V)

Se observa una reducción del tamaño de los ovarios, al igual que la intensidad de la coloración. La firmeza se recupera. La pared se va engrosando. La vascularización superficial disminuye, al igual que la visibilidad de los ovocitos blanquecinos. Los ovocitos en atresia característicos de este estadio se observan en forma de grumos por las irregularidades presentadas en sus bordes (Figura 30 f). Estos ovarios pesan de 14,3 a 43,1 g y los individuos en este estadio midieron 35 cm o más.

- Inactivo (Estadio I)

Un poco más grandes que los ovarios inmaduros. Coloración naranja y de consistencia firme. Característico de este estadio, es la observación de la pared engrosada con escasa vascularización. No se observan ovocitos blanquecinos (Figura 30 g). El rango de pesos varía de 1,9 a 7,2 g, correspondientes a individuos con longitudes 30 cm o más. Los ovarios quedan listos para retornar a una nueva maduración.

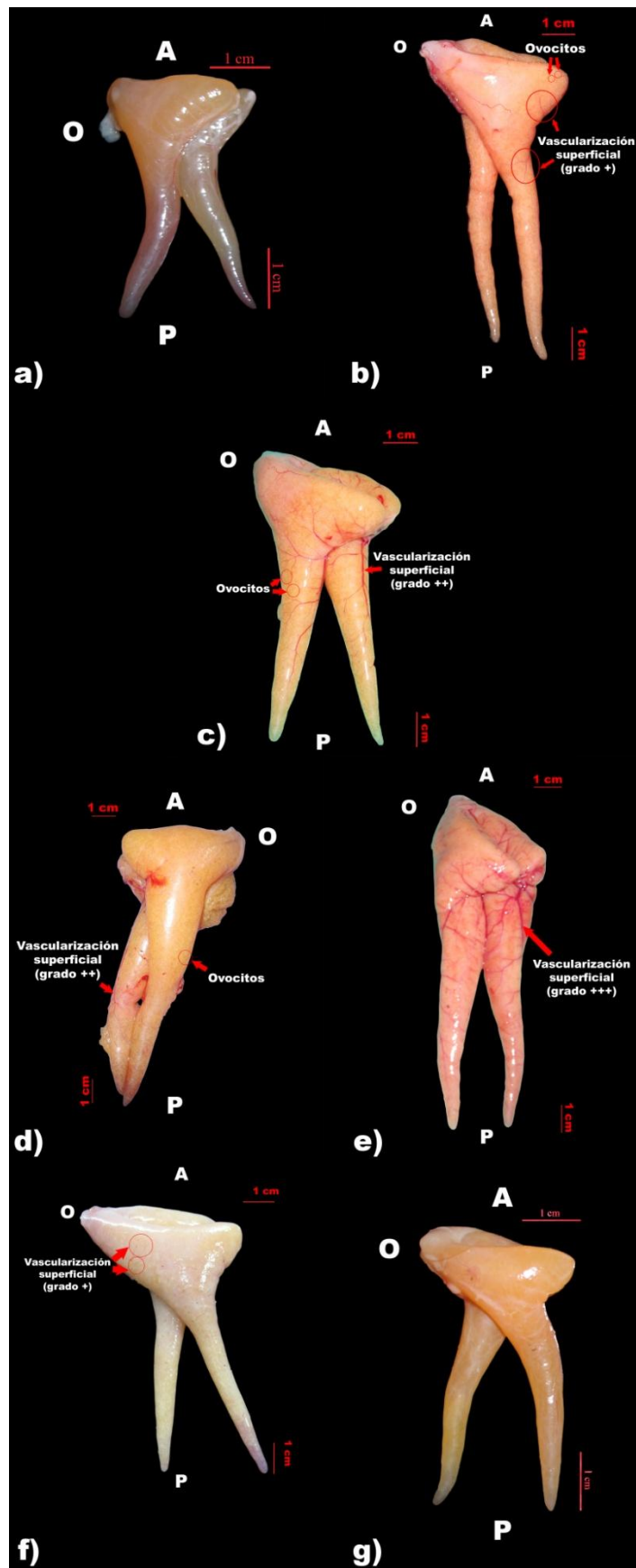


Figura 30: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c) Estadio maduro (Estadio III), d) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de ovocitos hidratados, e) Estadio desovante (Estadio IV) con presencia de folículos post-ovulatorios, f) Estadio recuperación (Estadio V) y g) Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Escala: 1 cm. A: orientación anterior, O: orientación del oviducto, P: orientación posterior.

7.2.2 Machos

Las observaciones macroscópicas permitieron establecer una escala de madurez, la cual consta de 6 estadios (Tabla 7).

Tabla 7: Estadios y sus características de la escala macroscópica de madurez gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: ausente, P: presente.

Estadio	Tamaño del testículo	Color del testículo	Consistencia del testículo	Turgencia del testículo	Vascularización del testículo	Semen
Inmaduro (Estadio 0)	+	Rosado a naranja claro			A	
En maduración (Estadio II)	++	Crema		Turgente en la parte central	P	
Maduro (Estadio III)	+++	Crema	*	Turgente	P	Fluye ante la presión (stripping)
Expulsante (Estadio IV)	+++	Crema	***	Turgente	P	Menor presión provoca liberación
Post-expulsante (Estadio V)	++	Crema a naranja claro	*		P	
Inactivo (Estadio I)	+	Naranja claro			P	

+ = Testículo pequeño
 ++ = Testículo mediano
 +++ = Testículo grande
 * = Testículo poco flácido
 ** = Testículo medianamente
 *** = Testículo muy flácido

- Inmaduro (Estadio 0)

Testículos pequeños, de color rosado a naranja claro y son firmes. No hay presencia de vascularización superficial. Translúcidos (Figura 31 a). Los pesos presentados por

este tipo de testículo son de 0,4 g a menos, correspondientes a individuos que miden 21 cm o menos.

- En Maduración (Estadio II)

Los testículos adquieren un mayor tamaño en comparación al estadio inmaduro. El color se torna por lo general cremoso. Son firmes. La vascularización es posible observarla aunque de manera poco desarrollada. Presentan una pequeña turgencia debido al aumento de la cantidad de espermatozoides en la parte central o Zona de Colección (Figura 31 b). Los testículos pesaron de 1,3 a 6,6 g, cuyas longitudes corresponden a individuos de 27 cm o más.

- Maduro (Estadio III)

Producto de la madurez los testículos ocupan una gran parte de la cavidad abdominal, el lóbulo de la parte posterior se proyecta hacia la región caudal adoptando los testículos una forma cónica. La coloración se torna blanco cremoso. Presenta flacidez. Tiene un desarrollo vascular mayor que los estadios anteriores. El aspecto turgente de este estadio es igualmente notorio. Frente a la presión abdominal liberan con facilidad el semen (Figura 31 c). Los pesos presentados por este tipo de testículo variaron de 0,6 y 16,9 g y fueron observados en individuos con longitudes de 26 cm o más.

- Expulsante (Estadio IV)

De aspecto flácido y poco turgente producto de la expulsión. El semen frente a cualquier movimiento fluye con facilidad (Figura 31 d). Los pesos variaron de 1,7 y 9,5 g, correspondientes a individuos de longitudes de 31 cm o más.

- Post-expulsante (Estadio V)

El tamaño se reduce por la expulsión de esperma. Adquiere una coloración cremosa a naranja claro. Se tornan menos turgentes. La vascularización superficial disminuye en relación al estadio anterior (Figura 31 e). Estos testículos pesaron de 2,3 a 4,8 g y corresponden a individuos de longitudes de 32 cm o más.

- Inactivo (Estadio I)

En este estadio el tamaño del testículo puede alcanzar al testículo en estadio II, el cambio de coloración es más notorio adquiriendo un color naranja claro con restos de vascularización superficial (Figura 31 f). Los pesos presentados por este tipo de testículo son de 0,6 g a más, correspondientes a individuos de longitudes totales de 28 cm o más. Este estadio sólo se observó en machos mantenidos en cautiverio.

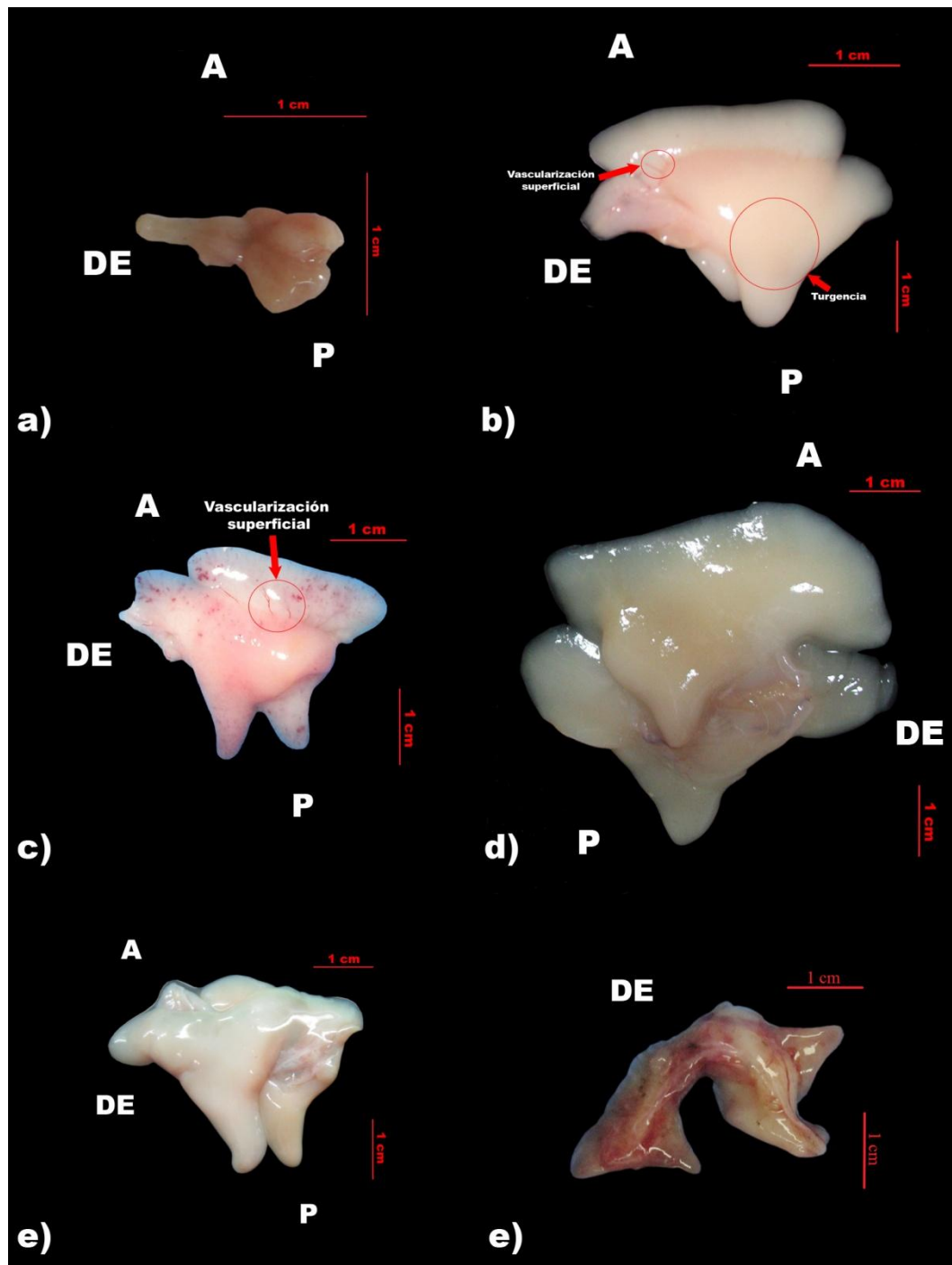


Figura 31: a) Estadio inmaduro (Estadio 0), b) Estadio en maduración (Estadio II), c) Estadio maduro (Estadio III), d) Estadio expulsante (Estadio IV), e) Estadio post-expulsante (Estadio V) y f) Estadio inactivo (Estadio I) de macho de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 1 cm. A: orientación anterior, DE: orientación del ducto espermático, P: orientación posterior.

Tabla 8: Estadios de madurez gonadal de hembras del lenguado *Paralichthys adspersus*. A: Atresia, FPO: folículo post-ovulatorio, O: ovogonia, OH: ovocito hidratado, OI: ovocito inmaduro, OM: ovocito maduro, OPV: ovocito pre-vitelogénico, OV: ovocito vitelogénico.

ESTADIO DE MADUREZ GONADAL	MICROSCÓPICAMENTE	MACROSCÓPICAMENTE
INMADURO	El estroma ocupa pocos espacios, las lamelas muestran claramente sus proyecciones, observándose un gran lumen. Presentes O, OI y OPV.	Ovarios pequeños, de coloración rosada a naranja claro. Pueden ser firmes o ligeramente flácidos. La pared es delgada y no hay presencia de vascularización superficial. No se visualiza ovocitos a simple vista.
EN MADURACIÓN	La pared aumenta su grosor. El estroma ocupa mayores espacios. Las lamelas alcanzan mayor proyección. El lumen se reduce. Presentes O, OI, OPV y OV.	El tamaño del ovario se incrementa y el color se torna más oscuro. La ligera flacidez continúa. La pared es delgada con signos de vascularización superficial. Se puede observar unos pocos ovocitos blanquecinos a simple vista.
MADURO	La pared se encuentra estirada por el aumento del volumen del ovario. El estroma ocupa mayor volumen. Las lamelas no son fáciles de visualizar porque se muestran bien compactas. El lumen es poco visible. Presentes O, OI, OPV, OV y OM. Además, pueden ser observados OM con núcleo migratorio.	Los ovarios continúan incrementando su tamaño, ocupando gran parte de la cavidad abdominal extendiéndose hasta casi dos tercios del cuerpo. La coloración es naranja. Firmes al tocarlos. La pared presenta una visible vascularización. Ovocitos blanquecinos son visibles a simple vista.
DESOVANTE	Pared delgada. En el estroma se observan vasos sanguíneos bien desarrollados. Las proyecciones de las lamelas disminuyen y el lumen del ovario. Presentes O, OI, OPV, OV, OM, OH y/o FPO.	En este estadio los ovarios alcanzan su máximo tamaño. La coloración es naranja. Encontramos dos tipos, basados en la observación de OH y FPO, en la primera la pared es delgada y bien turgente y en la segunda la flacidez es característica.
RECUPERACIÓN	La pared se observa gruesa. Los vasos sanguíneos continúan en el estroma. También se sigue observando la pérdida de la organización de las lamelas. Presentes O, OI, OPV, OV, OM y A ovocitaria en porcentaje > 50% de ovocitos vitelogenados.	Se observa una reducción del tamaño de los ovarios, al igual que la intensidad de la coloración. La firmeza se recupera. La pared se va engrosando. La vascularización superficial disminuye, al igual que la visibilidad de los ovocitos blanquecinos. La A característica de este estadio se observa en forma de grumos.
INACTIVO	La pared se mantiene engrosada y se observa el gran volumen alcanzado por el estroma, en algunos casos, se observan vasos sanguíneos en este último. Se recupera la visualización de las proyecciones de las lamelas. Presentes O, OI y OPV.	Un poco más grandes que los ovarios inmaduros. Coloración naranja y de consistencia firme. Característico de este estadio, es la observación de la pared engrosada, con escasa vascularización.

Tabla 9: Estadios de madurez gonadal de machos del lenguado *Paralichthys adspersus*. SP: espermatogonia, SPC: espermatocito, SPD: espermátida, SPZ: espermatozoide, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.

ESTADIO DE MADUREZ GONADAL	MICROSCÓPICAMENTE	MACROSCÓPICAMENTE
INMADURO	En la ZC observamos lóbulos seminíferos con cistos de SP, SPC y SPD. En la gran mayoría de los lúmenes de cada lóbulo se observan pocos SPZ. En la ZCL hay presencia de SPZ en los ductos eferentes en pequeñas cantidades.	Testículos pequeños, de color rosado a naranja claro y son firmes. No hay presencia de vascularización superficial. Translúcidos.
EN MADURACIÓN	Los lóbulos seminíferos contienen cistos en diferentes grados de desarrollo espermatogénico en sus paredes y SPZ en su lumen. La ZCL igualmente muestra un crecimiento de la cantidad de SPZ en relación al estadio anterior. El estroma alcanza un mayor volumen	Los testículos adquieren un mayor tamaño. El color se torna por lo general cremoso. Son firmes. La vascularización es posible observarla. Presentan una pequeña turgencia debido al aumento de la cantidad de SPZ en la ZCL
MADURO	El lumen de los lóbulos seminíferos se encuentra ocupado totalmente por SPZ dándole el aspecto de turgencia. Los cistos de diferentes tipos de células espermatogénicas pueden ser observados en la periferia de cada lóbulo. En los ductos eferentes los SPZ incrementan grandemente su densidad. El estroma alcanza un gran desarrollo en volumen siendo posible observar la vascularización.	Producto de la madurez los testículos ocupan una gran parte de la cavidad abdominal, el lóbulo de la parte posterior se proyecta hacia la región caudal adoptando los testículos una forma cónica. La coloración se torna blanco cremoso. Presenta flacidez. Tiene un desarrollo vascular mayor que los estadios anteriores. El aspecto turgente de este estadio es igualmente notorio. Frente a la presión abdominal liberan con facilidad el semen
EXPULSANTE	Algunos lúmenes de los lóbulos seminíferos se observan turgentes producto de la espermiación y algunos menos turgentes producto de la liberación de los SPZ hacia los ductos eferentes. La ZCL puede contener zonas muy turgentes con SPZ o zonas semi-vacías producto de la expulsión. El estroma se observa comprimido	De aspecto flácido y poco turgente producto de la expulsión. El semen frente a cualquier movimiento fluye con facilidad.
POST-EXPULSANTE	Los lóbulos seminíferos contienen cistos en sus paredes en mayor proporción en relación al estadio anterior; además sus lúmenes se observan poco llenos de SPZ. Los ductos eferentes de la ZCL se observan vacíos o casi vacíos producto de la expulsión de SPZ. El estroma aumenta en volumen	El tamaño se reduce por la expulsión de esperma. Adquiere una coloración cremosa a ligeramente naranja. Se tornan menos turgentes. La vascularización superficial disminuye en relación al estadio anterior.
INACTIVO	Características similares al estadio 0, pero presenta un estroma que ocupa un mayor volumen.	En este estadio el tamaño del testículo puede alcanzar al testículo en estadio II, el cambio de coloración es más notorio adquiriendo un color naranja claro con restos de vascularización superficial.

8. CICLO DE MADURACIÓN GONADAL

- Hembras

Los estadios de maduración gonadal para hembras descritos en este trabajo siguen el ciclo de la figura 32. Una vez que los peces inmaduros (Estadio 0) pasan al estadio en maduración (Estadio II) no retornan al estadio inmaduro, en tal sentido, atraviesan por los diferentes estadios de maduración y desove, hasta llegar al estadio inactivo y posteriormente reinician el ciclo en el estadio en maduración. Por las características de desovador parcial de la especie es necesario el ciclo interno del estadio desovante (Estadio IV) al estadio maduro (Estadio III) y viceversa; es decir, que después de un desove, los peces pueden presentar ovocitos maduros que desovarán en una siguiente camada.

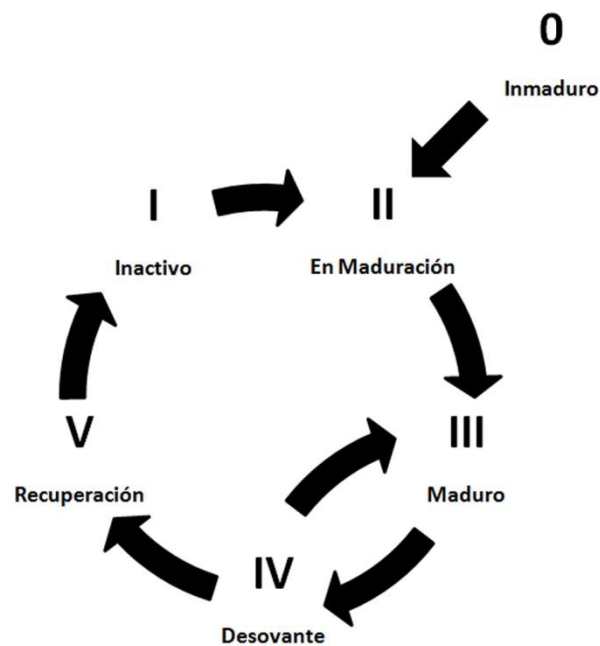


Figura 32: Ciclo de maduración gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

- Machos

Los estadios de maduración gonadal para machos descritos en este trabajo siguen el ciclo de la figura 33. Una vez que los peces inmaduros (Estadio 0) pasan al estadio en maduración (Estadio II) no retornan al estadio inmaduro, en tal sentido, atraviesan por los diferentes estadios de maduración y expulsión hasta llegar al estadio inactivo y posteriormente reinician el ciclo en el estadio en maduración. Los machos pueden expulsar espermatozoides varias veces durante una época reproductiva, por tal motivo observamos el ciclo interno del estadio expulsante (Estadio IV) al estadio maduro (Estadio III) y viceversa; es decir que después de una expulsión, la Zona de Colección puede presentar más espermatozoides para una siguiente.

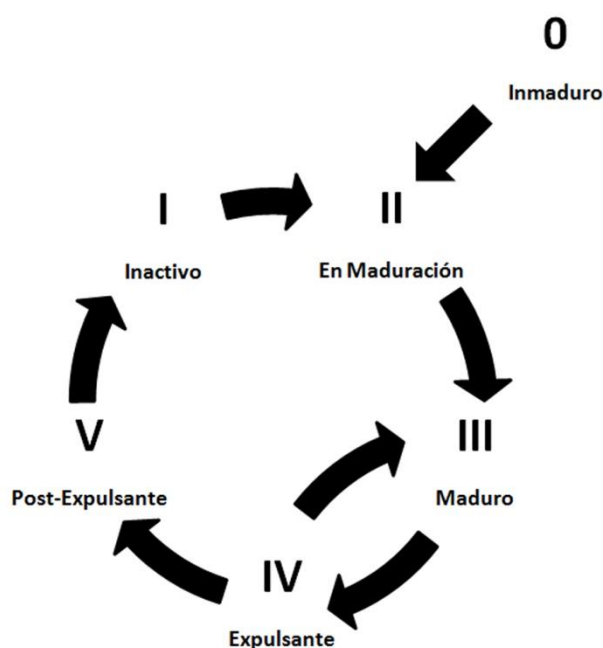


Figura 33: Ciclo de maduración gonadal de machos de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

9. PROPORCIÓN SEXUAL POR GRUPOS DE LONGITUDES TOTALES

En la figura 34 se observa que hay un crecimiento favorable de la proporción sexual de las hembras hacia mayores longitudes totales (región sombreada en gris), agrupadas

en intervalos de 5 cm. No obstante se observa limitaciones del número de machos en las longitudes más altas.

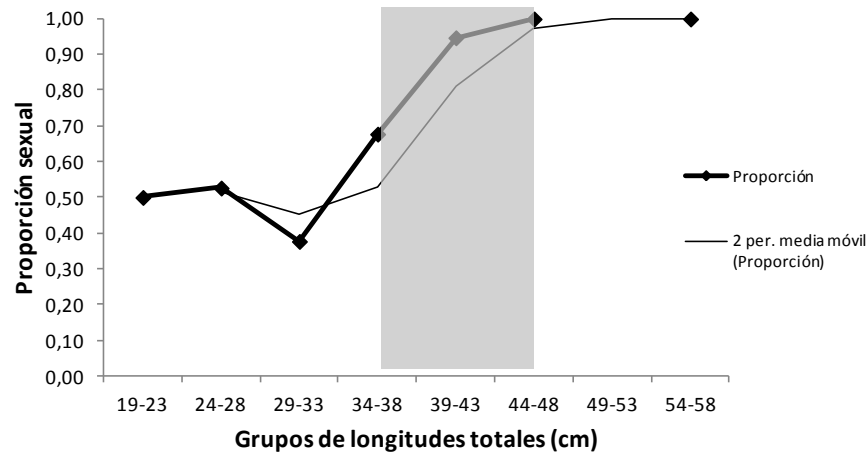


Figura 34: Proporción sexual por grupos de longitudes totales de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Región sombreada en gris: crecimiento favorable de la proporción de hembras.

10. TALLA DE PRIMERA MADUREZ GONADAL

La talla o longitud de primera madurez gonadal para las hembras, es decir la longitud a la cual el 50 % de los peces han madurado por primera vez (L_{50}) fue de 32,32 cm \approx 32 cm (Figura 35). No se realizó este análisis en los machos por la menor frecuencia de longitudes.

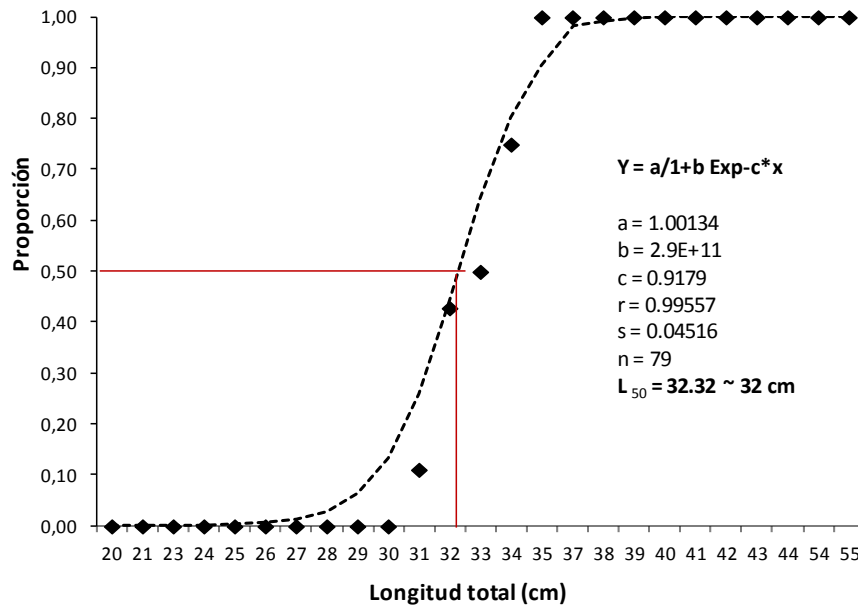


Figura 35: Talla de primera madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* "lenguado".

11. DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE MADUREZ GONADAL DURANTE EL ESTUDIO

- Hembras

Las condiciones reproductivas de las hembras del presente estudio según las estaciones se observan en la figura 36, el estadio inmaduro (Estadio 0) se presentó en todas las estaciones; el estadio II (En maduración) en verano, otoño e invierno; el estadio maduro (Estadio III) en todas las estaciones, siendo más representativo en primavera y verano. Peces catalogados como desovantes (Estadio IV) fueron observados en primavera y verano, siendo en este último donde se presentaron en mayor número. El estadio V (Recuperación) se observó sólo en verano y, el estadio inactivo (estadio I) se presentó en mayor número en otoño, además de encontrarse en las demás estaciones.

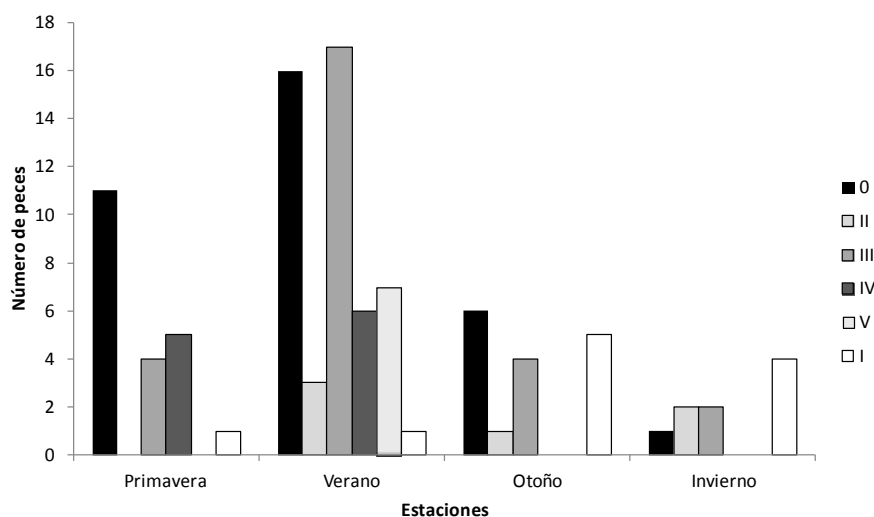


Figura 36: Número de hembras de *Paralichthys adspersus* "lenguado" por estadio de madurez gonadal según las estaciones. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.

- Machos

Las condiciones reproductivas de los machos del presente estudio según las estaciones se observan en la figura 37. El estadio inmaduro (Estadio 0) sólo se observó en otoño; el estadio II (En maduración) en todas las estaciones destacando en las estaciones de primavera y verano; el estadio maduro (Estadio III) en todas las estaciones, siendo más representativo en verano. Los peces catalogados como expulsantes (Estadio IV) y post-expulsantes (Estadio V) se observaron sólo en la estación de primavera y verano. No se consideró el estadio inactivo porque fue sólo observado en peces mantenidos en cautiverio.

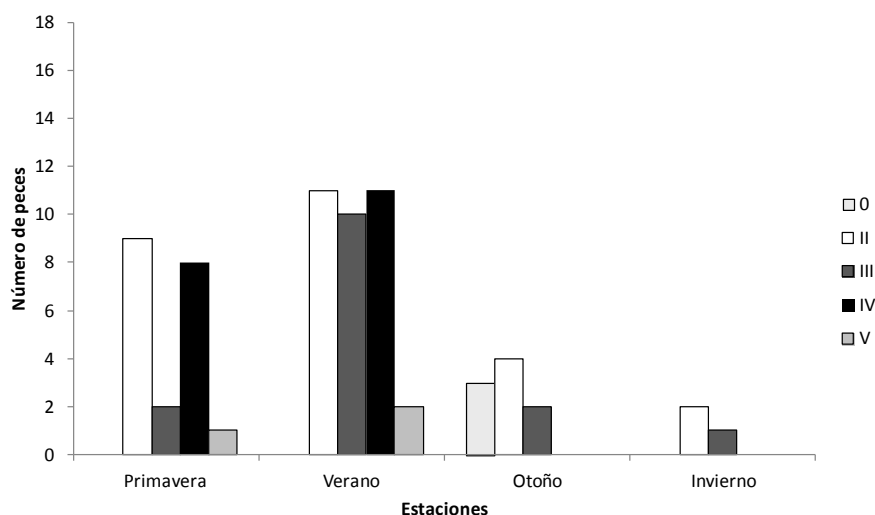


Figura 37: Número de machos de *Paralichthys adspersus* "lenguado" por estadio de madurez gonadal según las estaciones. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación.

12. EVALUACION DE OTROS PARÁMETROS INDICADORES DEL DESARROLLO GONADAL

12.1 ÍNDICE GONADOSOMÁTICO (IGS)

El IGS promedio mostró un mayor valor para las hembras que para los machos, con un promedio de $2,0 \pm 1,38$ % y $0,9 \pm 0,45$ % respectivamente (Tabla 10).

Tabla 10: Parámetros indicadores del desarrollo gonadal (IGS, IHS y K) de *Paralichthys adspersus* "lenguado" entre sexos. Parte superior de la fila: promedio \pm DS, Parte inferior de la fila: rango (R) y número de muestra (NM).

	Hembras	Machos
IGS	$2,0 \pm 1,38$ R: 0,14 - 6,03; NM: 90	$0,9 \pm 0,45$ R: 0,12 - 2,65; NM: 65
IHS	$1,5 \pm 0,47$ R: 0,55 - 3,68; NM: 94	
K	$1,2 \pm 0,13$ R: 0,69 - 1,64; NM: 95	$1,1 \pm 0,15$ R: 0,26 - 1,38; NM: 66

- Hembras

Los promedios de IGS para los estadios 0 (Inmaduro), II (En maduración), III (Maduro), IV (Desovante), V (Recuperación) y I (Inactivo) fueron de 0,1 %; 2,3 %; 3,3 %; 4,2 %, 2,2 % y 1 % respectivamente (Figura 38). Se obtuvo diferencias significativas en el IGS por estadio ($p < 0,05$).

- Machos

Los promedios de IGS para los estadios 0 (Inmaduro), II (En maduración), III (Maduro), IV (Expulsante) y V (Post-expulsante) fueron de 0,2 %; 0,9 %; 1 %; 1,1 % y 1 % respectivamente (Figura 38). Se obtuvo diferencias significativas en el IGS por estadio ($p < 0,05$); sin embargo, sólo el estadio inmaduro es estadísticamente diferente a los demás estadios.

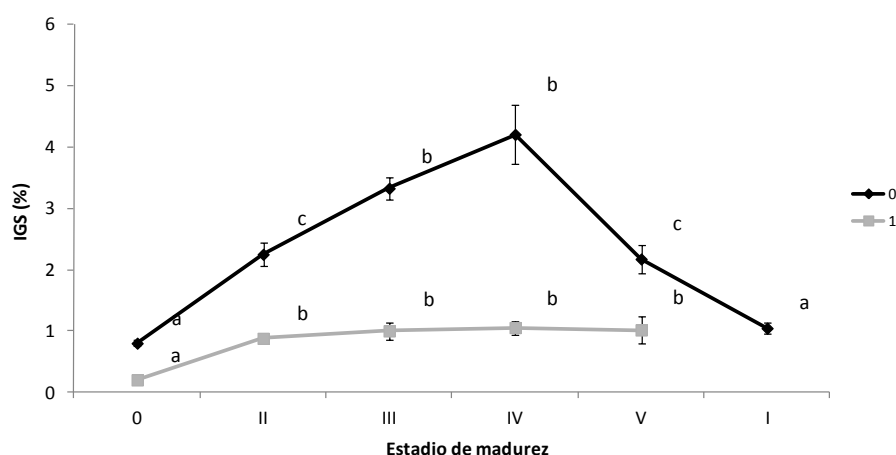


Figura 38: Índice gonadosomático (IGS) promedio para cada estadio de madurez gonadal de hembras (0) y machos (1) de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Las barras indican el error estándar y las letras las diferencias estadísticas. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante o expulsante, V: recuperación o post-expulsante, I: inactivo.

12.2 ÍNDICE HEPATOSOMÁTICO (IHS)

Las hembras mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el IHS por estadio, siendo los valores promedios por estadio de 1,3 % (Estadio 0); 1,5 % (Estadio II); 1,7 % (Estadio III); 1,9 % (Estadio IV); 1,2 % (Estadio V) y 1,3 % (Estadio I) (Figura 39).

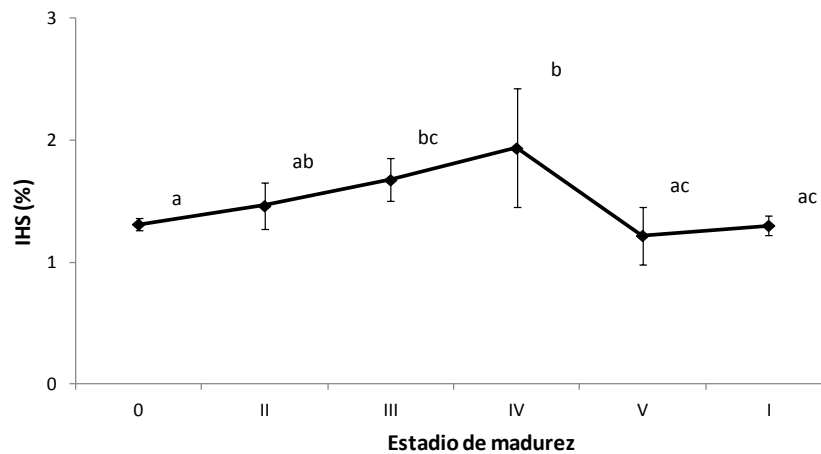


Figura 39: Índice hepatosomático (IHS) promedio para cada estadio de madurez gonadal de hembras de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. Las barras indican el error estándar y las letras las diferencias estadísticas. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.

12.3 FACTOR DE CONDICIÓN (K)

El valor de K varió para las hembras de 0,69 a 1,64 %, con un promedio de $1,2 \pm 0,129$ %; y para los machos de 0,26 a 1,38 %, con un promedio de $1,1 \pm 0,147$ % (Tabla 11).

Tabla 11: Máximo valor, mínimo valor y promedio del factor de condición (K) durante el periodo de estudio de hembras y machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

Sexo	Hembras			Machos		
Mes	Máximo	Mínimo	Promedio	Máximo	Mínimo	Promedio
Setiembre	1,15	1,06	1,10	1,32	0,98	1,23
Octubre	1,07	0,92	1,02	1,11	1,11	1,11
Noviembre	1,36	0,98	1,17	1,38	1,02	1,18
Diciembre	1,53	0,90	1,18	1,28	0,26	1,04
Enero	0,69	0,69	0,69			
Febrero	1,32	1,21	1,28			
Marzo	1,26	1,07	1,17	1,37	1,02	1,23
Mayo	1,24	0,89	1,07	1,01	0,96	0,98
Junio	1,18	1,07	1,14	1,15	1,15	1,15
Agosto	1,64	1,08	1,27	1,19	1,15	1,17

13. RELACIÓN LONGITUD TOTAL – PESO TOTAL

En la figura 40 se muestran las curvas de la relación longitud total - peso total en hembras y machos. Se observa un crecimiento similar entre ambos sexos hasta los 39 cm, que fue la longitud máxima de los machos. Las constantes de las respectivas ecuaciones no mostraron variaciones marcadas entre ambos sexos (hembras=0,0042; machos=0,0072). Los coeficientes, también no mostraron dichas variaciones (hembras=3,3054; machos=3,1486). La relación entre las dos variables para ambos sexos fue alta, lo cual fue evidente en el valor del coeficiente de determinación (R^2): 0,9745 para hembras y 0,9579 para machos.

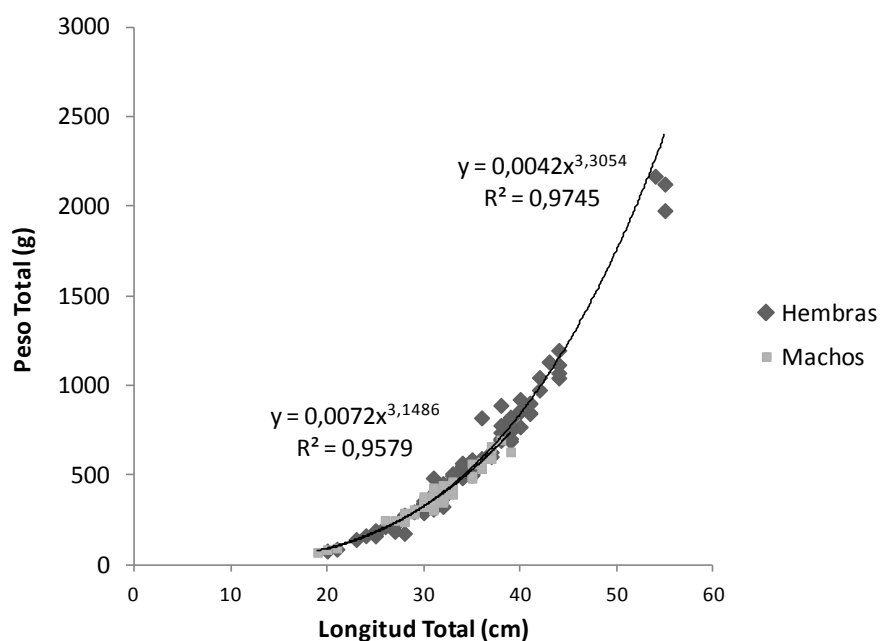


Figura 40: Relación longitud total – peso total de hembras y machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

14. PRESENCIA DEL PARÁSITO NEMATODO *Philometra* sp. EN LOS OVARIOS Y TESTÍCULOS

El nematodo *Philometra* sp. pertenece a la familia Philometridae cuyos integrantes son parásitos frecuentes de diversos tejidos del cuerpo y las cavidades de los peces de agua dulce y marinos. En este trabajo tuvo una prevalencia en las gónadas de hembras y machos en un porcentaje de 23,96 % y 12,12 % respectivamente. La prevalencia en el número total de peces analizados fue de 19,14 % (Figura 41).

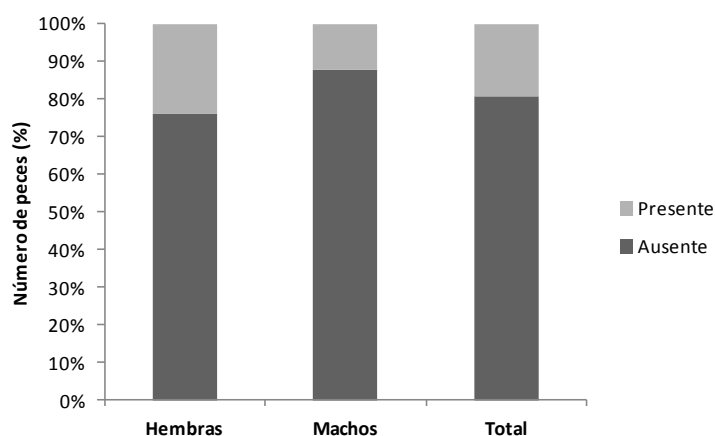


Figura 41: Prevalencia de *Philometra* sp. en hembras, machos y total de peces analizados de *Paralichthys adspersus* “lenguado”.

El nematodo se observó como un filamento de color rojo oscuro y se encuentra en cualquier parte de la gónada, generalmente cerca al oviducto o ducto espermático, en hembras o machos respectivamente (Figura 42 a y b).

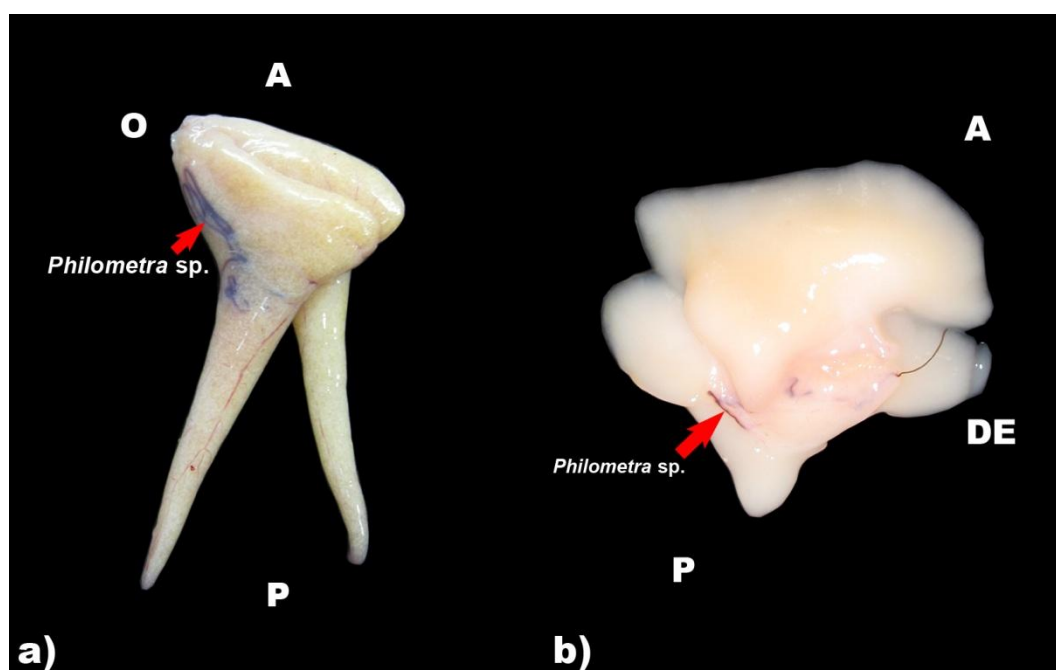


Figura 42: Observación macroscópica de *Philometra* sp. en a) Ovarios y b) Testículos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. A: orientación anterior, DE: orientación del ducto espermático, O: orientación del oviducto, P: orientación posterior.

Microscópicamente, *Philometra* sp. ocupa un espacio entre las lamelas de los ovarios (Figura 43 a) y en la Zona de Colección de los testículos (Figura 43 b).

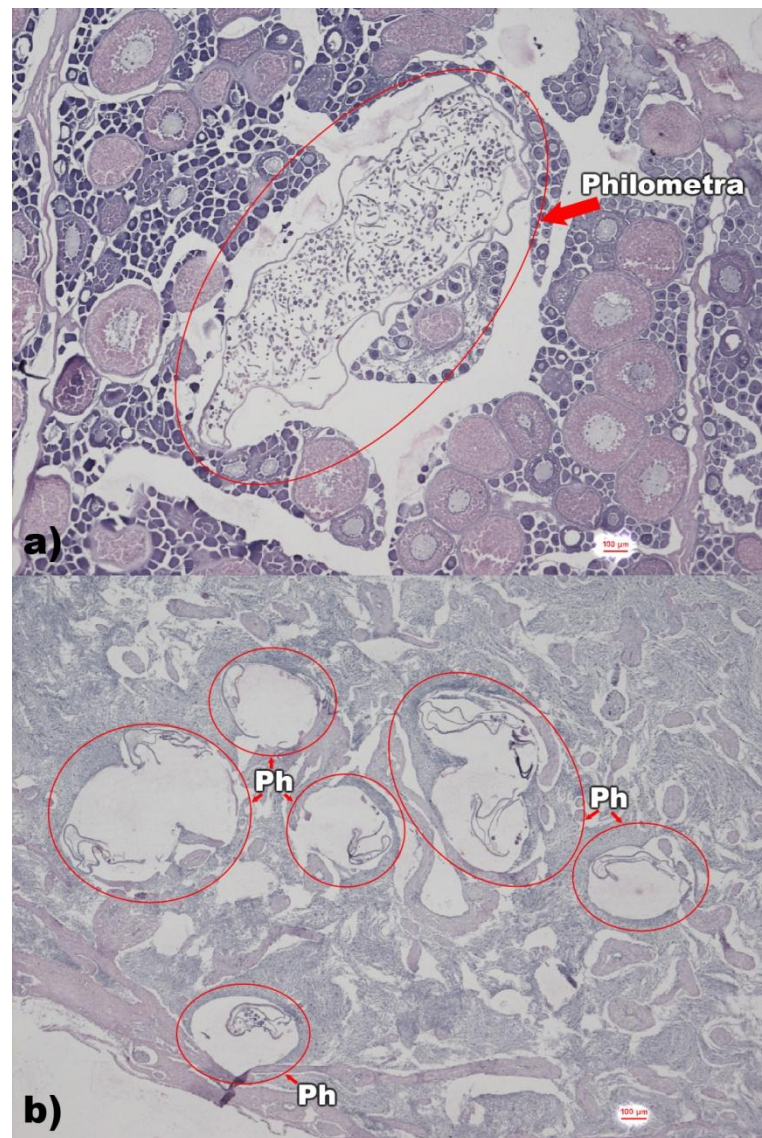


Figura 43: Observación microscópica de *Philometra* sp. en a) Ovarios maduros (Estadio III) y b) Testículos en maduración (Estadio II) de *Paralichthys adspersus* "lenguado". Escala: 100 µm. Aumento: 40x. Ph: *Philometra* sp.

La prevalencia de *Philometra* sp. no afecta el desarrollo gonadal de *Paralichthys adspersus* ya que se observó al nematodo en la gran mayoría de estadios de madurez gonadal de ambos sexos. En las hembras (Figura 44) se observó en todos los estadios

menos en el desovante (Estadio IV), destacando en el estadio en maduración (Estadio III). En los machos (Figura 45), se observó en los estadios II (En maduración), IV (Expulsante) y V (Post-expulsante) destacando en el estadio post-expulsante.

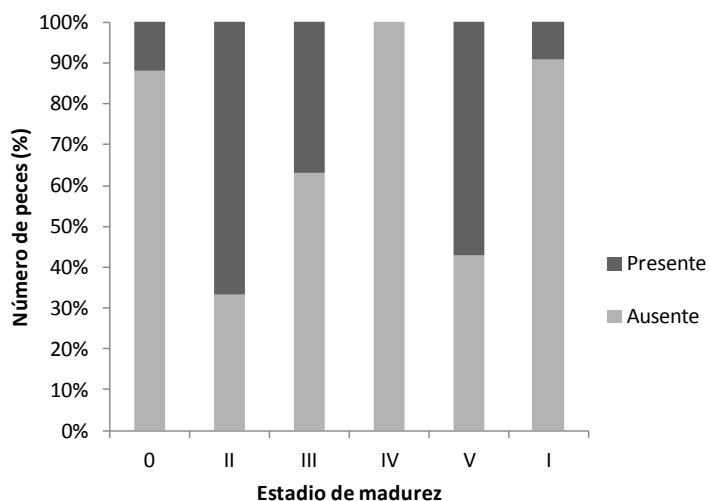


Figura 44: Prevalencia de *Philometra* sp. para cada estadio de madurez gonadal en hembras de *Paralichthys adspersus* "lenguado". 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: desovante, V: recuperación, I: inactivo.

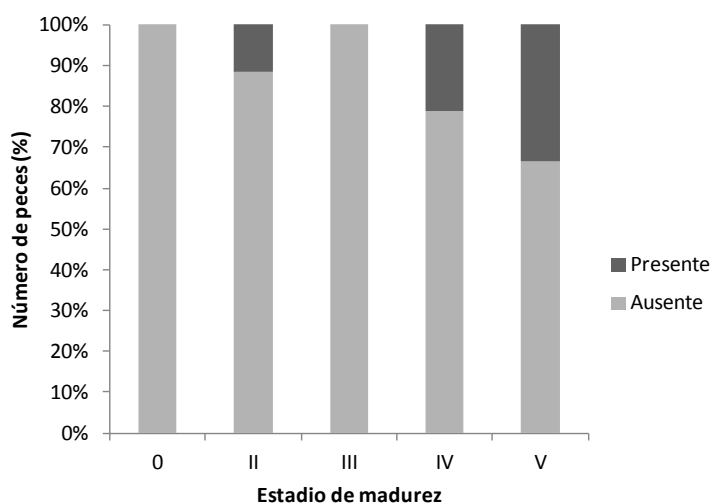


Figura 45: Prevalencia de *Philometra* sp. para cada estadio de madurez gonadal en machos de *Paralichthys adspersus* “lenguado”. 0: inmaduro, II: en maduración, III: maduro, IV: expulsante, V: post-expulsante.

15. ESTADIO DE MADUREZ GONADAL DE PECES MANTENIDOS EN CAUTIVERIO

Las características microscópicas y macroscópicas de las gónadas de peces mantenidos en cautiverio de octubre del 2009 hasta la fecha de su sacrificio (entre noviembre del 2009 y marzo del 2011), no variaron con los individuos silvestres lo que permitió utilizar la escala propuesta validada histológicamente para catalogar sus estadio de madurez gonadal (Figura 46 y 47).

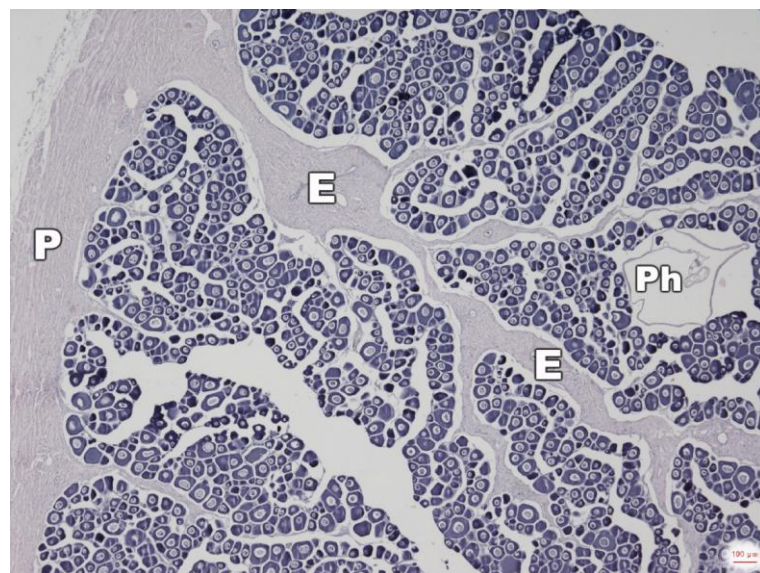


Figura 46: Estadio inactivo (Estadio I) de hembra de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenida en cautiverio. Escala: 100 μ m. Aumento: 40x. E: estroma, P: pared, Ph: *Philometra* sp.

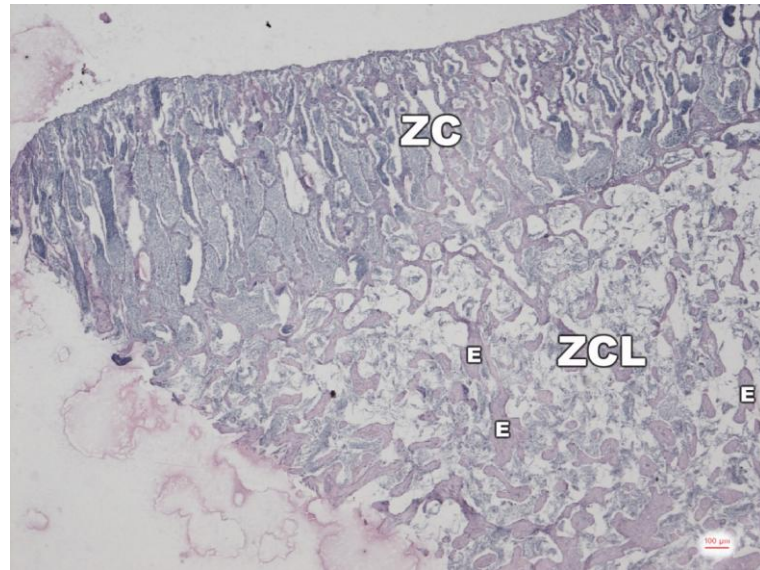


Figura 47: Estadío expulsante (Estadio IV) de macho de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenido en cautiverio. Escala: 100 µm. Aumento: 40x. E: estroma, ZC: zona de crecimiento, ZCL: zona de colección.

Se observó hembras en estadio inmaduro (Estadio 0), en maduración (Estadio II) e inactivo (Estadio I). En el caso de los machos, se observó en estadio en maduración (Estadio II), maduro (Estadio III), expulsante (Estadio IV) e inactivo (Estadio I). La mayor cantidad de ovarios estudiados se encontraron en estadio inactivo, al igual que los testículos, condiciones dadas por encontrarse los peces en proceso de adaptación a condiciones de cultivo (Figura 48).

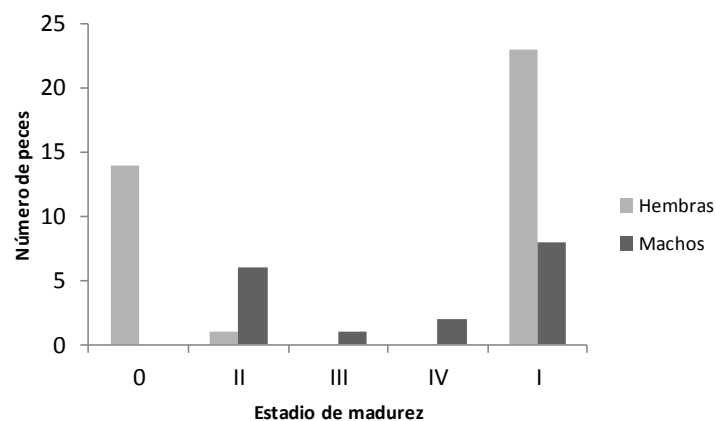


Figura 48: Número de peces por estadio de madurez gonadal según sexos de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenidos en cautiverio de octubre del

2009 hasta la fecha de su sacrificio (entre noviembre del 2009 y marzo del 2011).

El nematodo *Philometra* sp. también se observó en las gónadas de los peces cultivados, con una prevalencia de 13,16 %, 5,88 % y 10,91 % para hembras, machos y total de peces analizados respectivamente. La infección del nematodo se produjo en el lugar donde fueron capturados (Figura 49).

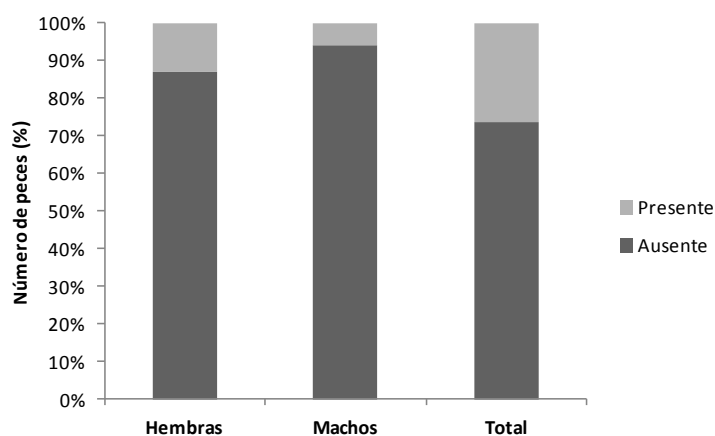


Figura 49: Prevalencia de *Philometra* sp. en hembras, machos y total de peces analizados de *Paralichthys adspersus* “lenguado” mantenidos en cautiverio de octubre del 2009 hasta la fecha de su sacrificio (entre noviembre del 2009 y marzo del 2011).

VI. DISCUSIÓN

ÍNDICES MORFOMÉTRICOS

Durante la presente tesis, las proporciones sexuales registraron un mayor porcentaje de individuos hembras en comparación de los machos. Esta mayor predominancia de hembras ha sido igualmente descrita por Acuña y Cid (2005), al respecto poco se sabe de sus causas. Se podría asumir que los machos se acercan más a la costa sólo en el periodo reproductivo y normalmente habitan en mayores profundidades; sin embargo, el arte de pesca y la distribución batimétrica que posee este recurso en las zonas de pesca para este estudio pueden producir sesgos y llevar a malas interpretaciones. Tomando en consideración sólo el rango de longitudes donde se alcanzaron las mayores capturas, es decir desde 30 a 40 cm, verificamos la mayor proporción de hembras.

Las longitudes totales registradas por individuo muestran que los mayores valores son alcanzados por las hembras (hembras: 20 – 55 cm y machos: 19 – 39 cm) resultado que verifica el dimorfismo sexual respecto al crecimiento, donde los machos son de menores longitudes (Samamé y Castañeda, 1999). Según Ángeles y Mendo (2005), estas diferencias se acrecientan a partir de los 40 cm. En la proporción sexual por grupos de longitudes totales verificamos la mayor proporción de hembras en las longitudes más grandes. En otros lenguados como *Xystreus rasile* también se registra este resultado, independientemente de la latitud y profundidad (Fabré et al., 2001). También, los machos de *Citharichthys spilopterus* predominaron en los grupos de longitudes menores, siguiendo el mismo patrón de muchos grupos de Pleuronectiformes, como Paralicthyidae (*Hipoglossina stomata*), Pleuronectidae (*Atherestes stomias*, *Pleuronichthys cornutus*) y Soleidae (*Solea lascaris*) (Dias et al., 2005).

Las longitudes máximas de las hembras (55 cm) y los machos (39 cm) son considerablemente menores a las registradas por Samamé y Castañeda (1999) para la misma especie, 84 y 57 cm respectivamente en la zona norte del Perú.

MORFOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR

Los ovarios y testículos de *P. adspersus* tienen una forma particular comparados con otras especies de peces teleósteos (Tresierra *et al.*, 2002). Así, los ovarios en su parte anterior son de forma triangular para luego conforme se aproxima a la región caudal van adoptando la tubular y alargada. Los testículos son triangulares en fases tempranas de maduración a cónicos en estadios maduros. Este cambio de la forma gonadal es una adaptación del órgano reproductivo acorde a la forma aplanada de la especie. Cabe mencionar que, en los reportes no se muestra una descripción morfológica de la gónada en esta especie.

No se observó diferencias macroscópicas en el tamaño entre los ovarios del lado ocular y lado ciego, diferencia reportada en el lenguado *Solea solea* (Ramos, 1982) donde el crecimiento de la gónada del lado ciego es mayor que la del lado ocular.

Los ovarios de *P. adspersus* corresponden al tipo cistovariano, en donde el lumen tiene continuidad con el oviducto (Hoar, 1969 en Bazzoli, 2003); además, se observó que el lumen se extiende hasta la parte posterior de los ovarios, indicándonos que ovocitos ovulados pueden desprenderse hacia el lumen inclusive desde la parte más distal de la gónada (posterior) hasta llegar al poro genital para ser desovados.

Las diferencias observadas en el tamaño de los testículos de *P. adspersus* del lado ocular y ciego no fueron macroscópicamente resaltantes, presentando en algunos casos mayor tamaño el testículo del lado ocular. En contraste, diferencias significantes se observaron en el lenguado *Solea senegalensis*, donde el testículo del lado ocular es

de mayor tamaño (García-López *et al.*, 2005); resultado contrario al observado en *Solea solea* (Ramos, 1982).

Los testículos de *P. adspersus* son de tipo lobular, compuesto de numerosos lóbulos, estructura observada en la mayoría de los teleósteos. También, se identificó en los testículos dos zonas: Zona de Crecimiento y Zona de Colección, la primera presenta los lóbulos seminíferos y la segunda, el sistema de ductos eferentes. Similar estructura encontramos en otros Pleuronectiformes como *Solea senegalensis* (García-López *et al.*, 2005) y en otras especies de teleósteos citadas en este último trabajo (*Lophiomus setigerus* (Vahl), *Rachycentron canadum* (L.) y *Thunnus thynnus* (L.))

DESARROLLO OVOCITARIO, FOLÍCULOS POST-OVULATORIOS Y ATRESIA

Las ovogonias y los ovocitos inmaduros fueron observados en los ovarios durante todo el periodo de estudio, resultado similar a todas las especies de los reportes en general para peces teleósteos con reproducción parcial.

La característica distintiva que se observó en los ovocitos pre-vitelogénicos es la visualización de los gránulos corticales. Según la literatura, hay tres tipos de materiales que se acumulan en los ovocitos: vesículas corticales o vesículas de vitelo (Bazzoli y Rizzo, 1990), gotas de aceite (vesículas de grasa, vacuolas o glóbulos, gotas de grasa o lípidos) (West, 1990) y gránulos o glóbulos de vitelo (Nagahama, 1983). En los teleósteos, particularmente en especies marinas las gotas de aceite comienzan a acumularse en el citoplasma, casi al mismo tiempo que las vesículas corticales que son precursores de los alveolos corticales. El contenido de estas dos estructuras son disueltos durante la deshidratación con los alcoholes y aparecen vacíos en la coloración con hematoxilina-eosina (West, 1990). En este trabajo se denomina a las gotas de aceite y vesículas corticales en general como gránulos corticales distinguiéndolas por su ubicación en la periferia del núcleo (gotas de aceite)

o en la periferia interna del ovocito (vesículas corticales); sin embargo, la diferenciación precisa es a través de otro tipo de coloraciones.

Se observó gránulos de vitelo a partir de los ovocitos vitelogénicos, caracterizados por la coloración rosada (afinidad cromática eosinófila) de su citoplasma. Vazzoler (1996) resalta que la formación y acumulación de vitelo es uno de los eventos más importantes en la maduración de los ovocitos. Además, según Bazzoli y Rizzo (1990) el vitelo es parcialmente sintetizado en el citoplasma por varias organelas (vitelogénesis endógena) y el resto es sintetizado fuera del ovario (vitelogénesis exógena), transportado luego por la circulación e incluida en el ovocito por micropinocitosis. Según esta información es necesario un estudio más detallado para observar la ruta de la síntesis del vitelo en los ovocitos de *P. adspersus*.

Los estadios finales de maduración de los ovocitos son a menudo difíciles de observar en el material histológico por el encogimiento y distorsión de éstas células durante el proceso; además, los ovocitos ovulados pueden perderse del lumen ovárico durante la preparación inicial del tejido (West, 1990). Dada esta literatura, las medidas de los ovocitos maduros se pueden comparar solo con datos procedentes de análisis histológicos. Como referencia los ovocitos maduros de ovarios no sometidos al análisis histológico de *P. adspersus* presentan un diámetro de 665 a 805 micrómetros (μm), en este trabajo se observó histológicamente de 279,54 a 480,96 μm .

En este estudio se caracterizaron 6 tipos de ovocitos: ovogonia, inmaduro, pre-vitelogénico, vitelogénico, maduro e hidratado, semejantes a los de la bibliografía pero nombrados de diferentes maneras. Los ovocitos inmaduros se conocen como cromatino-nucleolares o perinucleolares, dependiendo de su cantidad de nucleolos; los ovocitos pre-vitelogénicos como estadio de vesículas de vitelo o alveolo cortical y los ovocitos vitelogénicos y maduros dependiendo de la cantidad de gránulos de vitelo, en vitelogénesis primaria, secundaria o terciaria.

Los diámetros de los ovocitos inmaduros, pre-vitelogénicos, vitelogénicos y maduros (11,42 - 86,75 μm , 64,91 - 250,94 μm , 131,67 - 346,05 μm y 279,54 - 480,96 μm respectivamente) observados son mayores al lenguado *P. patagonicus* (20 - 80 μm , hasta 180 μm , 120-300 μm y hasta 400 μm respectivamente) (Macchi y Díaz, 1999), sin embargo este autor registró medidas de los ovocitos hidratados (hasta 600 μm) tipo de ovocito no medidos por la gran distorsión durante el procesamiento. Por el contrario, los diámetros en el lenguado *Dover sole* (pre-vitelogénicos y vitelogénicos: 150 - 550 μm y maduros: 470 - 1400 μm) (Hunter *et al.*, 1992) son superiores a los diámetros de los ovocitos en *P. adspersus*.

El desarrollo ovocitario ha sido descrito por varios autores y sus diferentes clasificaciones se basan en los criterios utilizados por cada uno de ellos; por ello, las caracterizaciones pueden ser distintas dependiendo de las especies y de la metodología utilizada y no a las diferencias morfofuncionales en el proceso de la gametogénesis, la cual parece tener un desenvolvimiento semejante entre los teleósteos (Flores y Hirt, 1998/1999; Bazzoli, 2003). En este trabajo a través de la observación de las características más resaltantes del desarrollo ovocitario tales como observación de gránulos corticales, gránulos de vitelo, envolturas ovocitarias entre otras, la clasificación fue en pocas divisiones comparadas con otros trabajos (Macchi y Díaz, 1996; Dias *et al.*, 2005).

Los folículos vacíos o post-ovulatorios (FPO) son remanentes de ovocitos vitelogenados ovulados, constituidos de paredes de células de la granulosa y teca, además de un lumen (Drummond *et al.*, 2000 en Bazzoli, 2003). Los nuevos folículos post-ovulatorios, cerca al periodo de desove, son fácilmente identificables pero se degeneran rápidamente, según la temperatura (West, 1990). En *P. adspersus* la velocidad en que los folículos se degeneran no es conocida, por lo tanto los FPO no fueron clasificados en función de los días como en *Engraulis ringens* (Hunter y Macewicz, 1985) sino en fases de reabsorción como en *P. patagonicus* (Macchi y

Díaz, 1996). En este trabajo, las características observadas de los FPO son similares a otras especies de peces (Hunter y Macewicz, 1985) como consecuencia de las pequeñas diferencias en la estructura de los ovocitos.

Se encontró diferentes tipos de atresia pero no han sido materia de este estudio su clasificación. Basándonos en las características de las diferentes etapas de atresia según Hunter y Macewicz (1985), se observó atresia α y β . A pesar de la gran cantidad de literatura del desarrollo ovocitario en teleósteos, poco es conocido sobre los aspectos del proceso de atresia (Miranda *et al.*, 1999). Aunque la atresia es definida como un proceso normal y fisiológico en los ovarios de los vertebrados, también se ha informado que el mecanismo de atresia puede ser desencadenado por factores variables como la hipofisectomía, fotoperiodismo y cambios de salinidad, agentes antigonadotrópicos, estrés y contaminación (Üçüncü y Çakıcı, 2009). También, es probable que la atresia forme parte de la regulación del potencial reproductivo (Witthames y Greer, 1995), sin embargo De Vlaming (1983) (Miranda *et al.*, 1999) considera que la atresia no causa una drástica disminución en la fecundidad de los peces. Las características de atresia son similares a las observadas en otras especies de peces (Miranda *et al.*, 1999; Üçüncü y Çakıcı, 2009). También se observó que la atresia es más frecuente en los ovarios después del desove y en los ovocitos vitelogenados no ovulados. Según Üçüncü y Çakıcı (2009), los ovocitos no vitelogenados tienen una menor incidencia de atresia porque su estructura genética orientada hacia el modelado de los tejidos es menos activa.

DESARROLLO ESPERMATOGÉNICO

Todos los tipos de las células espermatogénicas se observaron en los testículos de *P. adspersus* durante el periodo de este estudio, presentando variaciones en su proporción y ubicación. Las espermatogonias se observaron a lo largo de los lóbulos

seminíferos, este tipo de distribución corresponde al irrestricto (Grier, 1981 en Billard *et al.*, 1982).

En *P. adspersus* a lo largo de las paredes de los lóbulos seminíferos se observó cistos del mismo tipo de células espermatogénicas. Según Mattei *et al.* (1993) (García-López *et al.*, 2005) este tipo de espermatogénesis corresponde al cístico, el cual se aplica en la mayoría de los teleósteos.

En este estudio se caracterizaron 6 tipos de células espermatogénicas: espermatogonia, espermatocito, espermatida y espermatozoide. La descripción del desarrollo espermatogénico es similar al descrito en otros teleósteos al igual que la terminología, evitando las confusiones presentadas en el desarrollo ovocitario (West, 1990). Hay clasificaciones más detalladas donde dividen las espermatogonias en dos tipos A y B, según se observen antes o después de la mitosis, y, espermatoцитos en I y II (García-López *et al.*, 2005). Sin embargo, la coloración H-E (hematoxilina-eosina) no permite hacer una discriminación de este tipo.

Comparando los promedios de las medidas de las células espermatogénicas de *P. adspersus* (espermátidas: $3,01 \pm 0,44 \mu\text{m}$ y cabezas de los espermatozoides: $1,84 \pm 0,43 \mu\text{m}$) con las observadas por García-López *et al.* (2005) en *Solea senegalensis* (espermátidas: $2,31 \pm 0,50 \mu\text{m}$ y cabezas de los espermatozoides: $1,04 \pm 0,04 \mu\text{m}$), las espermátidas y cabezas de los espermatozoides de los primeros presentan mayores tamaños.

HOMOGENEIDAD DEL OVARIO Y CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS POBLACIONES OVOCITARIAS

La inexistencia de diferencias significativas entre los ovarios derecho e izquierdo y entre las partes anterior, media y posterior de cada uno de ellos, nos indican el homogéneo desarrollo gonadal del ovario. Se decidió realizar los cortes para el

procesamiento histológico de la parte anterior, ya que presenta una mayor cantidad de tejido y por lo tanto permite una mejor observación. Comparaciones similares han sido realizadas por Witthames y Greer (1995) en *Solea solea*, pero con respecto a la densidad de sus ovocitos.

La caracterización morfométrica de las poblaciones ovocitarias, utilizando técnicas histológicas o ovocitos en fresco es un método exacto pero no práctico para determinar la madurez gonadal (Hunter *et al.*, 1992); además, proporciona una visión de la dinámica de la maduración de los ovocitos y del tipo de desove de las especies (West, 1990). En tal sentido, en este trabajo se observó que *P. adspersus* posee un ovario de tipo asincrónico, ya que presentó ovocitos en todas las etapas de desarrollo en un mismo momento. Además, en la caracterización morfométrica de los estadios más avanzados *P. adspersus* muestra diferentes grupos modales, es decir polimodal, sugiriendo el desove de tipo parcelado de esta especie, condición citada en otros trabajos (Angeles y Mendo, 2005; Silva y Oliva, 2010).

Un método utilizado para medir a los ovocitos es el diámetro promedio de dos ejes perpendiculares (West, 1990). Sin embargo, la preservación de los ovarios causa cambios en el tamaño de los ovocitos al igual que el procesamiento histológico. Además para evitar no tomar el diámetro más largo de los ovocitos, solo los ovocitos seccionados a través del núcleo deben ser medidos en el material histológico, entonces la probabilidad de que esto se presente es proporcional al diámetro del núcleo (West, 1990). Todas estas consideraciones limitan el valor de la caracterización morfométrica de los ovocitos en las secciones histológicas, recomendando realizar las mediciones de ovocitos frescos.

ESCALA DE MADUREZ GONADAL VALIDADA MICROSCÓPICAMENTE

Las gónadas de *P. adspersus* mostraron cambios en el tamaño y aspecto durante su maduración. Nagahama (1983) asocia estos cambios a que la mayoría de los teleósteos son reproductores cíclicos y las gónadas varían mucho en su apariencia en diferentes momentos del ciclo.

Uno de los aspectos utilizados para clasificar a los ovarios fue en base a la presencia del tipo de ovocito más avanzado. Este método es el más simple comparado con el utilizado por algunos autores de basar sus clasificaciones en el número relativo de cada tipo de ovocito (West, 1990). Como no existe ninguna indicación de cuál de estos dos enfoques es superior, parece que el enfoque más simple, basada en la presencia en lugar de proporciones, es preferible.

La técnica histológica de inclusión en parafina a pesar de ser una metodología cara y que consume gran cantidad de tiempo, es el método más apropiado y preciso para identificar los estadios de madurez gonadal (Hunter y Macewicz, 1985; West, 1990) y en especial utilizado en la medida de la frecuencia de desove, donde se observa si el pez está desovando o ha recientemente desovado a través de la identificación de los ovocitos hidratados y folículos post-ovulatorios (Hunter y Macewicz, 1995); además es un método para establecer un periodo reproductivo y una talla de primera madurez con mayor precisión.

Se establecieron 6 estadios de maduración ovárica que fueron validadas microscópicamente: inmaduro, en maduración, maduro, desovante, recuperación e inactivo. Samamé y Castañeda (1999) adaptan la escala macroscópica de Johansen (1924) para esta especie, sin embargo la gran cantidad de estadios dificultan su uso. Ángeles y Mendo (2005) evalúan la maduración de *P. adspersus* con la escala macroscópica utilizada por Ramos (1982) en *Solea solea* (inmaduro, reposo sexual, inicio de la maduración, prepuesta, puesta, postpuesta) no obstante la terminología no parece ser la adecuada por el uso del término puesta que no se refiere a

características de la gónada si no a su función. Otras escalas utilizadas en otros miembros de la familia Paralichthyidae (Macchi y Díaz, 1999; Takeno *et al.*, 1999; Fabré *et al.*, 2001; Dias *et al.*, 2005) presentan diferencias en la ausencia del estadio recuperación y/o inactivo, que lo agrupan en algunos casos como inmaduro, la división del estadio desovante en desove y post-desove y del estadio maduro en diferentes grados de maduración (temprano, intermedio y avanzado).

Al igual que en las hembras, se establecieron 6 estadios de maduración testicular: inmaduro, en maduración, maduro, expulsante, post-expulsante e inactivo. Este último estadio sólo se observó en los peces en cautiverio. La catalogación en estadios de madurez gonadal de los testículos es más difícil que en los ovarios debido a que macroscópicamente no presentan mayores diferencias durante su desarrollo, sin embargo la histología es un metodología importante utilizada para distinguir los estadios (Rijnsdorp, 1989). La maduración testicular es un proceso continuo, no obstante, en este trabajo se ha podido identificar diferentes grados de llenura de los lóbulos seminíferos y ductos eferentes, los que permitió tener criterios para clasificar en diferentes grados de maduración testicular. Estos criterios de maduración no lo hemos encontrado en la literatura disponible para otros lenguados donde generalmente se clasifica en tres grandes divisiones: inmaduro, maduro y expulsante (Takeno *et al.*, 1999; Dias *et al.*, 2005).

En este estudio, las características microscópicas en su conjunto permitieron determinar los diferentes grados de maduración gonádica y describir el número de los estadios de maduración macroscópica para *P. adspersus*, así cuando no sea posible utilizar la histología, esta escala será una herramienta útil en los muestreos de desembarques y en las investigaciones en relación a la reproducción de esta especie.

Diferentes autores discuten sobre el número de escalas de madurez gonadal en los teleósteos, algunos proponen la generalización en pocas escalas debido a la pequeña

variación en el desarrollo de las gónadas; sin embargo otros autores argumentan que no es posible generalizar porque los criterios difieren entre las especies. La importancia de *P. adspersus* como especie de valor comercial y potencial para la acuicultura, influyeron en la determinación de una escala de madurez gonadal basada en las características específicas de esta especie. La clasificación en pocas divisiones comparada con otros trabajos, resalta la practicidad de su aplicación con fines de manejo en el medio natural o en cautiverio.

TALLA DE PRIMERA MADUREZ GONADAL

Estimaciones de la talla o longitud de primera madurez gonadal para esta especie es la reportada por Zuñiga (1988) de 21 cm sin especificar sexo (Silva y Oliva, 2010). En este trabajo se observó una longitud de 32 cm sólo para hembras ya que en los machos no se pudo realizar este análisis; sin embargo, es considerable pensar que la longitud de primera madurez es menor en los machos que en las hembras. La longitud de primera madurez nos indica que a partir de ese punto se puede considerar a los peces como adultos, en tal sentido a pesar de no ser objetivo de este trabajo se consideró importante calcular para la aplicación en pesquería como en acuicultura.

DISTRIBUCIÓN ESTACIONAL DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE MADUREZ GONADAL DURANTE EL ESTUDIO

La mayor parte de las capturas de hembras y machos estuvo representada por individuos maduros o desovantes (hembras) o expulsantes (machos) en los meses que comprenden las estaciones de primavera y verano, indicándonos máxima actividad reproductiva. La época reproductiva indicada para *P. adspersus* entre primavera-verano nos explica estos resultados (Samamé y Castañeda, 1999; Ángeles y Mendo, 2005).

EVALUACIÓN DE OTROS PARÁMETROS INDICADORES DEL DESARROLLO GONADAL

En las hembras el valor del IGS varió de 0,1 a 6,0 %, valores bajos comparados con el lenguado *P. olivaceus* (Pham *et al.*, 2006) aproximadamente de 0 a 16 %. En los machos el valor del IGS varió de 0,1 a 2,7 %, también valores bajos comparados con *P. olivaceus* (Pham *et al.*, 2006) aproximadamente de 0 a 6 % y que el lenguado *Pleuronectes platessa* (Rijnsdorp, 1989) que llega hasta 17 %, pero mayores a los valores de *Solea senegalensis* (García-López *et al.*, 2005) de 0.045 a 0.149 % y *Solea solea* (Ramos, 1982) de 0,02 a 0,14 %.

Los menores valores del IGS observados en los machos se relaciona con los menores pesos presentados por los testículos en relación a los ovarios vinculado adicionalmente a tamaños de ejemplares machos más pequeños.

El IGS es un buen indicador del desarrollo gonadal de los ovarios; sin embargo, da pocas indicaciones de los procesos involucrados en la dinámica de este órgano (Dias *et al.*, 2005), es por ello que tiene que ser utilizado como un complemento a la utilización de escalas de madurez gonadal o mediciones de ovocitos. En el caso de los machos, la comparación del IGS entre los estadios de madurez gonadal muestra la homogeneidad del desarrollo de los testículos, mostrando que el IGS no es un buen indicador de la maduración testicular.

El IHS, también puede ser utilizado como un indicador del desarrollo gonadal pero sólo en el caso de las hembras donde el hígado tiene un papel importante como órgano precursor de los componentes del vitelo. En las hembras, el IHS mostró mayores valores en el estadio desovante (estadio IV), este resultado se debe al mayor

porcentaje de ovocitos llenos de vitelo en la fase temprana de este estadio y por ende alta influencia del hígado.

Algunos autores (Dias *et al.*, 2005) han considerado a K como un parámetro interesante para interpretar los estados madurativos de determinadas especies (Ramos, 1982), pero este no fue el caso en este trabajo, observando similares valores de K entre los meses y estadios.

Las hembras y los machos de *P. adspersus* analizados mostraron similares parámetros en la relación longitud total (LT) versus peso total (PT), a pesar del marcado dimorfismo sexual respecto al crecimiento presentado por esta especie (Samamé y Castañeda, 1999). Estos últimos autores aprecian la diferenciación de los sexos a partir de los 40 cm; la máxima longitud de los machos capturados en este trabajo fue de 39 cm, por esta razón no se observó en la curvas de las relaciones el dimorfismo citado. Los valores de b (3,1903) de la ecuación $PT=0,0047LT^{3,1903}$ con todos los peces (hembras y machos) indican un crecimiento isométrico según Froese (2006). Este último autor destaca que sólo cuando todas las estimaciones de la longitud-peso disponibles son consideradas de toda un área y estaciones tendrá sentido hablar de un crecimiento isométrico versus alométrico de la especie en su conjunto basado en la media b; por lo tanto, el valor de b solo es válido para esta situación de estudio.

PRESENCIA DEL PARÁSITO NEMATODO *Philometra* sp. EN LOS OVARIOS Y TESTÍCULOS

La prevalencia de *Philometra* sp. en las gónadas de *P. adspersus* se observó en la mayoría de los meses del período de estudio y en mayor porcentaje en las hembras. Mayormente se distinguió de manera macroscópica en los ovarios y en algunos casos en los testículos; no obstante, microscópicamente corroboramos su presencia en todas

las gónadas. Oliva *et al.* (1996) encontraron una prevalencia de *Philometra* sp. de 17,6 % en lenguados del norte de Chile, resultados similares a los nuestros (19,14 %); además, también encontró que la abundancia media y prevalencia fue mayor en hembras que en machos. Este autor señala que las diferencias de la infección entre sexos se deben principalmente por diferencias en la dieta o fisiología pero no por diferencias entre hábitats. Además, Kong *et al.* (1995) no observó diferencias en la dieta entre machos y hembras. Por lo tanto, las distintas fisiologías entre ambos sexos podría ser la principal causa. En este estudio se observó los mayores tamaños de los ovarios en relación a los testículos; en tal sentido, se puede atribuir la mayor prevalencia de *Philometra* sp. en hembras por la mayor superficie donde alojarse que alcanzaría en sus gónadas, no obstante, es necesario más estudios.

A través de los cortes histológicos, observamos que este parásito solo ocupa un espacio en el lumen de los ovarios y entre los ductos eferentes de los testículos; en tal sentido, no se observó anormalidades producidas por la infección ni efectos en la maduración de las gónadas, ya que se observó en la gran mayoría de los estadios de madurez. Sin embargo, como no fue objetivo de este estudio, se requiere profundizar más en el tema.

ESTADIO DE MADUREZ GONADAL DE PECES MANTENIDOS EN CAUTIVERIO

Las características macro y microscópicas de las gónadas de los individuos sometidos al cautiverio no mostraron ninguna diferencia con respecto a las gónadas de los individuos silvestres. Probablemente, mayores niveles de atresia deben ser observados en los ovarios de individuos en cautiverio, causado principalmente por el confinamiento (Miranda *et al.*, 1999); sin embargo, esto no se observó en las muestras analizadas. No obstante, en cautividad los niveles de atresia son más frecuente en los ovocitos vitelogenados (Miranda *et al.*, 1999) y en este trabajo se observó poco porcentaje de hembras con este tipo de ovocitos.

VII. CONCLUSIONES

- El sistema reproductor femenino consta de un par de ovarios, los cuales en su parte anterior están unidos por un solo oviducto y son de forma triangular y van adoptando una forma tubular en su parte media y posterior. Microscópicamente, los ovarios están conformados por una pared, lamelas y un estroma que los sostiene.
- El sistema reproductor masculino consta de un par de testículos, triangulares en fases tempranas de maduración a cónicos en estadios maduros. Microscópicamente, se diferenció una Zona de Crecimiento (periférica) y una Zona de Colección (central), en la primera se presentó los lóbulos seminíferos y en la segunda los ductos eferentes.
- En el desarrollo ovocitario se caracterizaron 6 tipos de ovocitos: Inmaduro, Pre-vitelogénico, Vitelogénico, Maduro e Hidratado. Además de evidencias de ovocitos ovulados: Folículos post-ovulatorios y ovocitos en reabsorción: Atresia.
- En el desarrollo espermatogénico se caracterizaron 6 tipos de células espermatogénicas: Espermatogonia, Espermatocito, Espermatida y Espermatozoide.
- La escala de madurez gonadal para hembras validada microscópicamente consta de 6 estadios: Inmaduro, En maduración, Maduro, Desovante, Recuperación e Inactivo.
- La escala de madurez gonadal para machos validada microscópicamente consta de 6 estadios: Inmaduro, En maduración, Maduro, Expulsante, Post-expulsante e Inactivo.
- La talla o longitud de primera madurez gonadal para las hembras fue de 32 cm.

- La prevalencia del parásito nematodo *Philometra* sp. fue de 19,14 % y mayor en hembras que en machos. No se observaron anormalidades producidas por la infección ni efectos en la maduración de las gónadas.

VIII. RECOMENDACIONES

Ampliar los estudios en *Paralichthys adspersus* sobre otros parámetros de su reproducción como frecuencia y área de desove, fecundidad parcial, fecundidad relativa y biomasa desovante, los cuales darán resultados más exactos a partir de la escala de madurez gonadal validada microscópicamente.

La distribución batimétrica y la estacionalidad de *P. adspersus* dificulta la obtención de los ejemplares por tal motivo se recomienda un adecuado diseño de muestreo y de la utilización de artes de pesca; en tal sentido, se podría ampliar los resultados en cuestión de la distribución estacional y mensual en áreas donde predomine el recurso.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, E. Y CID, L. On the ecology of two sympatric flounders of the genus *Paralichthys* in the Bay of Coquimbo, Chile. *Netherlands Journal of Sea Research*, 1995, vol. 34, nº 1-3, p. 7-18.
- ÁNGELES, B. Y MENDO, J. Crecimiento, fecundidad y diferenciación sexual del lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner) de la costa central del Perú. *Ecología Aplicada*, 2005, vol. 4, p. 105-112.
- BAZZOLI, N. Parâmetros reprodutivos de peixes de interesse comercial na região de Pirapora. En H. P. GODINHO Y A. L. GODINHO (edit.). *Águas, Peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais*. SOGRAFE, 2003, p. 291-306.
- BAZZOLI, N. Y RIZZO, E. A comparative cytological and cytochemical study of the oogenesis in ten Brazilian fish species. *European Archives of Biology*, 1990, vol. 101, p. 399-410.
- BILLARD, R., FOSTIER, A., WEIL, C. Y BRETON, B. Endocrine Control of Spermatogenesis in Teleost Fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1982, vol. 39, nº 1, p. 65-79.
- CARRERA, L. Obtención de semilla de lenguado *Paralichthys adspersus* en el Perú. *Ruta Pesquera*, 2006, vol. 58, p. 38-39.
- CARRERA, L.; COTA, N.; MONTES, M.; MATEO, E.; SIERRALTA, V.; CASTRO, T.; PEREA, A.; SANTOS, C.; CATCOPARCO, C. Y ESPINOZA, C. (en prensa). Broodstock management of the fine flounder *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) using recirculating aquaculture systems. *Latin American Journal*.

- CARRERA, L. Y SANTOS, C. Cultivo de Lengudo *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en Cautiverio. Informe Técnico Anual Instituto del Mar del Perú, 2007.
- CHINCHAYÁN, M.; VERA, G.; CISNEROS, R. Y CARRERA, L. Notas sobre el cultivo de los lenguados *Paralichthys adspersus* y *Etropus ectenes* en ambiente controlado. Informe progresivo Instituto del Mar del Perú, 1997, vol. 64, p. 34-51.
- CHIRICHIGNO, N. 1998. Clave para la identificación de los peces marinos del Perú. Publicación Especial Instituto del Mar del Perú, 1998, vol. 3.
- CISNEROS, R.; BAUTISTA, J.; CARRERA, L.; SILVA, I.; PAURO, J., Y SANTOS, C. Acondicionamiento y crianza del "lengudo" *Paralichthys adspersus* en ambiente controlado. Informe Interno Instituto del Mar del Perú, 1999, vol. 48.
- DIAS, J. F.; FIADI, C. B.; SILBINGER, H. L. N. Y SOARES, L. S. H. Reproductive and population dynamics of the Bay whiff *Citharichthys spilopterus* Günther, 1862 (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the Mamanguá Inlet, Rio de Janeiro, Brazil. Neotropical Ichthyology, 2005, vol. 3, p. 411-419.
- FABRÉ, N. N.; COUSSEAU, M. B. Y DENEGRÍ, M. A. Aspectos de la dinámica poblacional del lenguado *Xystreureus rasile* (Jordan, 1890) en el sector del Atlántico Sudoccidental comprendido entre 34° y 40°S. Investigaciones marinas, 2001, vol. 29, p. 83-105.
- FISHBASE. *Paralichthys adspersus*. Disponible en web: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?ID=10573&genusname=Paralichthys&speciesname=adspersus&AT=Paralichthys+adspersus&lang=Spanish>.

- FLORES, S. Y HIRT, L. Biología reproductiva de las hembras de *Hemiodus orthonops* (Eigemann y Kenedy, 1909) (Pisces, Hemiodidae). Boletim do Instituto de Pesca, 1998/1999, vol. 25, p. 111-120.
- FROESE, R. Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. Journal of Applied Ichthyology, 2006, vol. 22, p. 241–253.
- FULTON, T. W. The rate of growth of fishes. Twenty-second Annual Report. Fisheries Board of Scotland, Edinburgh, 1904, part. III, p. 141–241.
- GARCIA-LOPEZ, A.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, G. Y SARASQUETE, C. Male reproductive system in Senegalese sole *Solea senegalensis* (Kaup): Anatomy, histology and histochemistry. Histology and Histopathology, 2005, vol. 20, p. 1179-1189.
- GONÇALVES, T. L.; BAZZOLI, N. Y BRITO, M. F. G. Gametogenesis and reproduction of the matrinxã *Brycon orthotaenia* (Günther, 1864) (Pisces: Characidae) in the São Francisco river, Minas Gerais, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 2006, vol. 66, p. 513-522.
- HUMASON, G. L. *Animal tissue techniques*. 4th ed. USA, Ed. W. H. Freeman Co., 1979, 661 p.
- HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. J.; LO, N. C. Y KIMBREL, C. A. Fecundity, spawning, and maturity of female Dover sole *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. Fishery Bulletin, 1992, vol. 90, nº 1, p. 101-128.
- HUNTER, J. R. Y MACEWICZ, B. J. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. En R. LASKER. *NOAA Technical Report NMFS 36*. U.S. Department of Commerce, 1985, p. 79-94.

- JOHANSEN, A. C. On the Summer and Autumn Spawning Herring of the North Sea. Medd Fomm, 1924.
- KONG, I.; CLARKE, M. Y ESCRIBANO, R. Alimentación de *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867) en la Zona Norte de Chile. Osteichthyes: Paralichthyidae. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 1995, vol. 30, p. 29-44.
- KONG, I. Y CASTRO, H. Peces. En O. ZUÑIGA. *Guía de Biodiversidad: Macrofauna y Algas Marinas*. 2002, vol. 1, nº 3, 23 p.
- MACCHI, G. J. Y DÍAZ, J. M. Ciclo reproductivo y fecundidad del lenguado *Paralichthys patagonicus* Jordan, en Jordan y Goss 1889. Revista de Investigación y Desarrollo Pesquero, 1996, vol. 10, p. 73-83.
- MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN (PRODUCE). Desembarque de recursos marítimos según especie, 2000 – 10 (TM), 2011. Disponible en web: http://www.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/DESEMSUBMENU02/2010/pdf/01_13.pdf
- MIRANDA, A.C.L.; BAZZOLI, N.; RIZZO, E. Y SATO, Y. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. Tissue and Cell, 1999, vol. 31, nº 5, p. 480-488.
- MIRANDA, C. Y ROJAS, R. Prevalencia de patologías oportunistas en el cultivo experimental del lenguado *Paralichthys adspersus*. Analytical Microbiology, 1993, vol. 1, p. 51-54.
- NAGAHAMA, Y. The Functional Morphology of Teleost Gonads. En W. S. HOAR, D. J. RANDALL, y E. M. DONALDSON (edit.). *Fish Physiology*. Academic Press, 1983, vol. 9, part A, p. 223-275.

- PHAM, K.; AMANO, M.; AMIYA, N.; KURITA, Y. Y YAMAMORI, K. Changes in brain and pituitary GnRH levels during ovarian maturation in wild female Japanese flounder. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2006, vol. 32, nº 3, p. 241-248.
- PIAGET, N.; VEGA, A.; SILVA, A. Y TOLEDO, P. Effect of the application of β -glucans and mannan-oligosaccharides (β G MOS) in an intensive larval rearing system of *Paralichthys adspersus* (Paralichthyidae). *Investigaciones marinas*, 2007, vol. 35, p. 35-43.
- RAMOS, J. Contribución al estudio de la sexualidad del lenguado *Solea solea* (Linneo, 1758) (Pisces, Soleidae). *Investigación Pesquera*, 1982, vol. 46, nº. 2, p. 275-286.
- SAMAMÉ, M. Y CASTAÑEDA, J. Biología y pesquería del lenguado *Paralichthys adspersus*, con especial referencia al área norte del litoral peruano, departamento de Lambayeque. *Boletín Instituto del Mar del Perú*, 1999, vol. 18, nº 1-2, p. 15-48.
- SILVA, A. Efecto de la microalga *Isochrysis galbana* en el cultivo temprano de larvas de *Paralichthys adspersus*. *Ciencias Marinas*, 1999, vol. 25, p. 267-276.
- SILVA, A. Advance in the Culture Research of Small-Eye Flounder, *Paralichthys microps*, and Chilean Flounder, *P. adspersus*, in Chile. *Journal of Applied Aquaculture*, 2001, vol. 11, nº 1-2, p. 147-164.
- SILVA, A.; OLIVA, M. Y CASTELLÓ, F. Evaluación del crecimiento de juveniles de lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) cultivado en estanques. *Biología Pesquera*, 2001, vol. 29, p. 21-30.

- SILVA, A. Y FLORES, H. Consideraciones sobre el desarrollo y crecimiento larval del lenguado (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) cultivado en laboratorio. Pacífico Sur, 1989, número especial, p. 629-634.
- SILVA, A. Y FLORES, H. Observations on the growth of the Chilean flounder (*Paralichthys adspersus*, Steindachner, 1867) in captivity. European Aquaculture Society Special Publication, 1994, vol. 22.
- TALLEDO, C. Observaciones preliminares de la biología del "lenguado común" *Paralichthys adspersus* (Steindachner). Anales del I Congreso Nacional de Biología Pesquera, 1985, p. 171-174.
- TAKENO, K.; HAMANAKA, Y.; KINOSHITA, I. Y MIYAJIMA, T. Maturity of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Western Wakasa Bay, the Japan sea. Nippon Suisan Gakkai, 1999, vol. 65, nº 6, p. 1023-1029.
- TRESIERRA, A., CULQUICHICON, Z. Y VENEROS, B. *Biología reproductiva en peces*. 2nd. ed. Perú, Ed. Nuevo Norte, 2002, 285 p.
- ÜÇÜNCÜ, S.İ. Y ÇAKICI, Ö. Atresia and Apoptosis in Preovulatory Follicles in the Ovary of *Danio rerio* (Zebrafish). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2009, vol. 9, p. 215-221.
- VAZZOLER, A.E.A.M. *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. Maringá: EDUEM, 1996.
- WEST, G. Methods of Assessing Ovarian development in Fishes: a Review. Marine and Freshwater Research, 1990, vol. 41, nº 2, p. 199-222.

WITTHAMES, P.R. Y GREER WALKER, M. Determinacy of fecundity and oocyte atresia in sole (*Solea solea*) from the Channel, the North Sea and the Irish Sea. Aquatic Living Resources, 1995, vol. 8, nº 1, p. 91-109.